

INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE POUR LE DEVELOPPEMENT EN COOPERATION  
(**ORSTOM**)  
CENTRE D'ADIOPODOUME  
B.P. V-51 ABIDJAN (Côte d'Ivoire)

---

Laboratoire d'Amélioration des Plantes

---

**ETUDE DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE  
CHEZ LE GENRE *PANICUM***

par

**Bernard ASSIENAN**

Septembre 1988

# SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	
I. MATERIEL VEGETAL .....	
II. LES MARQUEURS DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE .....	
A. Systèmes enzymatiques étudiés .....	
B. Méthodes et techniques .....	
C. Résultats .....	
C1. Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) .....	
C1.1. Diploïdes .....	
C1.2. Tétraploïdes .....	
C2. Phosphoglucomutase (PGM) .....	
C2.1. Diploïdes .....	
C2.2. Tétraploïdes .....	
C3. Estérases (EST) .....	
C3.1. Diploïdes .....	
C3.2. Tétraploïdes .....	
C4. Endopeptidase (EP) .....	
C4.1. Diploïdes .....	
C4.2. Tétraploïdes .....	
C5. Phosphoglucose isomérase (Pgi) .....	
C5.1. Diploïdes .....	
C5.2. Tétraploïdes .....	
C6. Phosphogluconate déshydrogénase (PGD) .....	
C6.1. Diploïdes .....	
C6.2. Tétraploïdes .....	
C7. Shikimique déshydrogénase (SKDH) .....	
C7.1. Diploïdes .....	
C7.2. Tétraploïdes .....	
C8. Isocitrate déshydrogénase (ICD) .....	
C8.1. Diploïdes .....	
C8.2. Tétraploïdes .....	
C9. Malate déshydrogénase (MDH) .....	
C9.1. Déterminisme génétique des bandes de la zone I : mise en évidence de 2 gènes : Mdh-1 et Mdh-2 .....	

- C9.2. Déterminisme génétique des bandes de la zone II : mise en évidence de Mdh-3 .....
- C9.3. Action de l'acide ascorbique sur les isoenzymes de la zone II .....
- C9.4. Observation des isoenzymes de grains de pollen .....

### III. ETUDE DE LA DIVERSITE ENZYMATIQUE DES POPULATIONS DIPLOIDES ET TETRAPLOIDES DES SYSTEMES GOT ET MDH .....

#### A. Etude de la diversité enzymatique de got .....

- A1. Dans les populations de diploïdes .....
- A2. Etude réalisée sur les autotétraploïdes artificiels et les tétraploïdes naturels récoltés à proximité de diploïdes .....
- A3. Etude effectuée sur les tétraploïdes naturels de la région située entre Meru et Embu (Kenya) .....

#### B. Diversité enzymatique de MDH .....

- B1. Les populations de plantes diploïdes .....
- B2. L'ensemble de plantes tétraploïdes récoltées entre Meru et Embu.

### IV. ANALYSE DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE DES POPULATIONS DIPLOIDES ET TETRAPLOIDES DE PANICUM .....

#### 1. Le codage des données .....

#### 2. L'analyse des données .....

#### 3. Résultats .....

##### a. La richesse en électromorphes .....

##### b. L'organisation de la variabilité .....

- b1. Plantes diploïdes .....
  - b1.1. Les ensembles de variabilité .....
- b2. Plantes tétraploïdes .....
  - b2.1. Les ensembles de variabilité .....

**V. CONCLUSION ET DISCUSSION .....**

**A. Le système GOT, son contrôle génétique et sa diversité .....**

**B. Le système MDH, son contrôle génétique et sa diversité .....**

**C. La variabilité enzymatique .....**

**D. Perspectives .....**

**VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....**

**ANNEXES .....**

**PLANCHES .....**

## INTRODUCTION

Deux prospections réalisées en Afrique de l'Est (Kenya et Tanzanie) en 1967 et en 1979 ont permis de réunir l'essentiel de la variabilité du groupe de *Maximae*. Aujourd'hui la station de recherche d'Adiopodoumé entretient environ 600 souches dont la quasi totalité appartient à l'espèce *Panicum maximum*, Jacq. et seulement 4 et 2 plantes sont respectivement du *Panicum infestum*, Anders et du *Panicum trichocladum*, K. Schum (Noirot, 1978).

Les recherches faites par l'ORSTOM dans le domaine de l'amélioration qualitative et quantitative du *Panicum* en Côte d'Ivoire remontent en 1967.

Chez cette graminée fourragère, Souciet (1978), étudiant l'influence du gamète mâle sur la constitution génotypique de l'albumen, a montré que le polymorphisme enzymatique peut constituer une approche particulièrement intéressante de la variabilité pour le comportement sur la base morphologique.

Il a été décidé d'étudier la diversité du matériel végétal réuni en collection par le polymorphisme enzymatique.

De telles investigations pourraient permettre de :

- avoir des informations sur la garniture du génôme et de connaître le contrôle génétique et la structure de nombre de systèmes enzymatiques ;
- mesurer la diversité génétique des clones et leur finger print ;
- étudier la structure d'ensembles des populations, clines ou couplages de populations voisines ;
- faire un tri précoce des plantes sexuées et des apomictiques si des marqueurs sont fortement liés au mode de reproduction ;
- sélectionner des parents sur la base des distances génétiques pour des croisements.

Le rapport présente, en première partie, et pour chacun des marqueurs le profil de zymogrammes des plantes étudiées, la structure de l'enzyme, le nombre de loci et d'électromorphes suggérés codant les différents isozymes. La deuxième partie concerne la diversité enzymatique observée dans les populations diploïdes et tétraploïdes. Enfin une discussion des résultats est proposée dans la dernière partie.

## I. MATERIEL VEGETAL

Les échantillons utilisés sont composés de plantes diploïdes ( $2x = 16$ ) et tétraploïdes ( $4x = 32$ ). Ils sont prélevés sur des clones maintenus en collection en Côte d'Ivoire. Les origines géographiques des souches rapportées de prospections

en Afrique de l'Est sont portées sur les cartes 1 et 2.

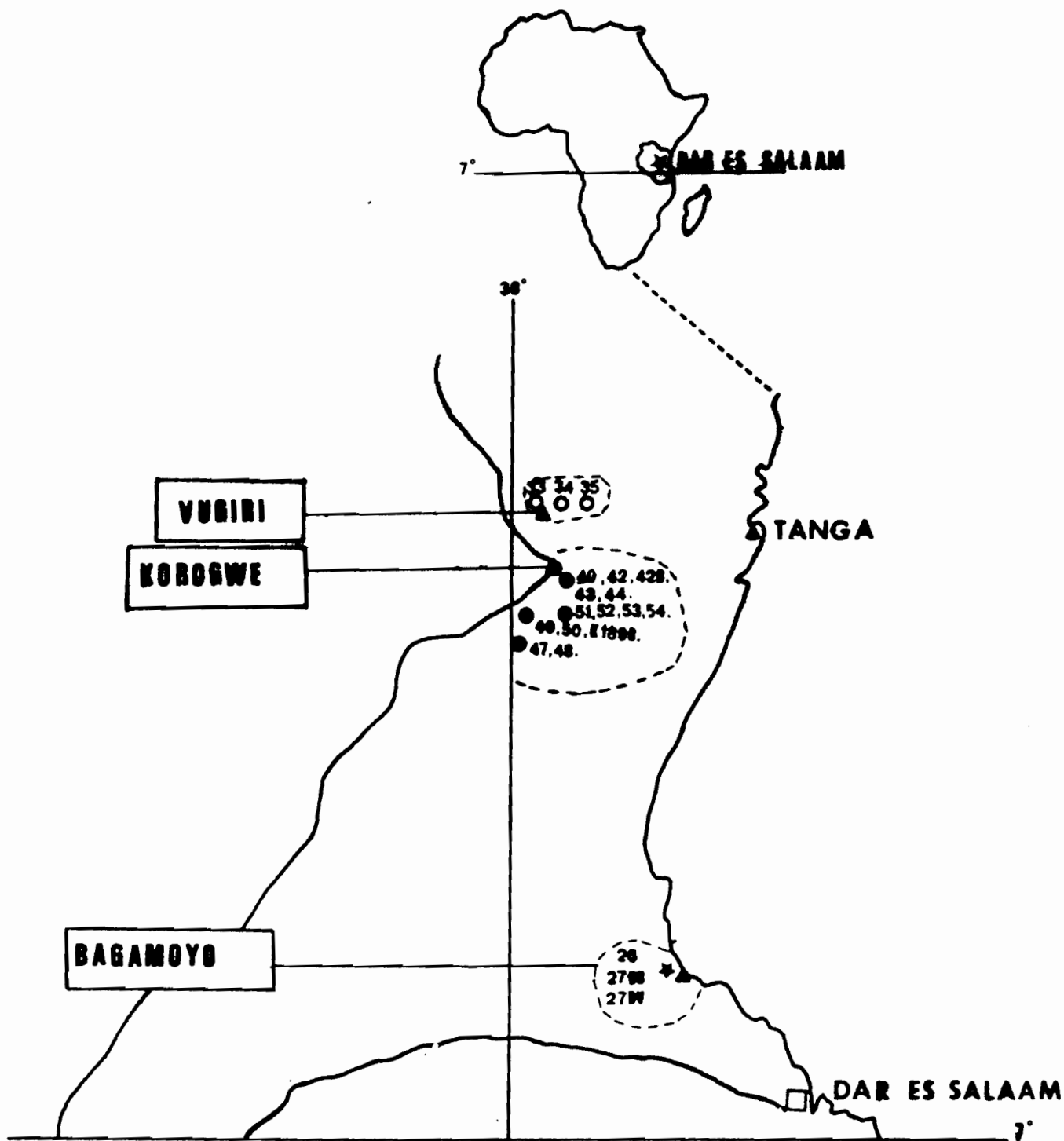
Les études ont porté sur les 3 populations de diploïdes (il s'agit des plantes des 3 régions suivantes : Korogwé, Vugiri et Bagamoyo indiquées sur la carte 1).

La population de tétraploïdes analysés a été récoltée entre Meru et Embu au Kenya (carte 2) ; elle comprend 57 plantes composées de : *Panicum maximum* (type A et type B), un *Panicum infestum* (K83) et une forme d'apparence hybride (type C) entre ces 2 taxons. Le tableau 1 présente la répartition des individus selon les différents types de *Panicum* ci-dessus énumérés. En plus des clones décrits plus haut, l'étude est réalisée sur des plantes diploïdes et tétraploïdes sympatriques et des tétraploïdes artificiels obtenus par traitement à la colchicine de diploïdes (T33.T ; T41.T ; K189A.T ; S1.T ; S2.T et 1.D23.T).

PANICUM	Effectif	Plantes
<i>maximum</i>		
type A	29	K51, K54, K55, K58, K59, K63, K64, K65, K67, K68, K70, K71, K72, K75, K76, K93, KK4, KK7, KK8, KK10, KK13, KK14, KK15, KK16, KK17, KK21, KK22, KK23, KK28
type B	18	K46, K47, K48, K49, K61, K62, K74, K78, K84, K85, K87, K89, K90, K92, KK12, KK25, KK29, KK33.
tpc C	9	K77, K79, K80, K88, KK6, KK18, KK20, KK26, KK34.
<i>infestum</i>	1	K83.

Tableau 1 : Les plantes récoltées dans la région comprise entre Meru et Embu (Kenya).

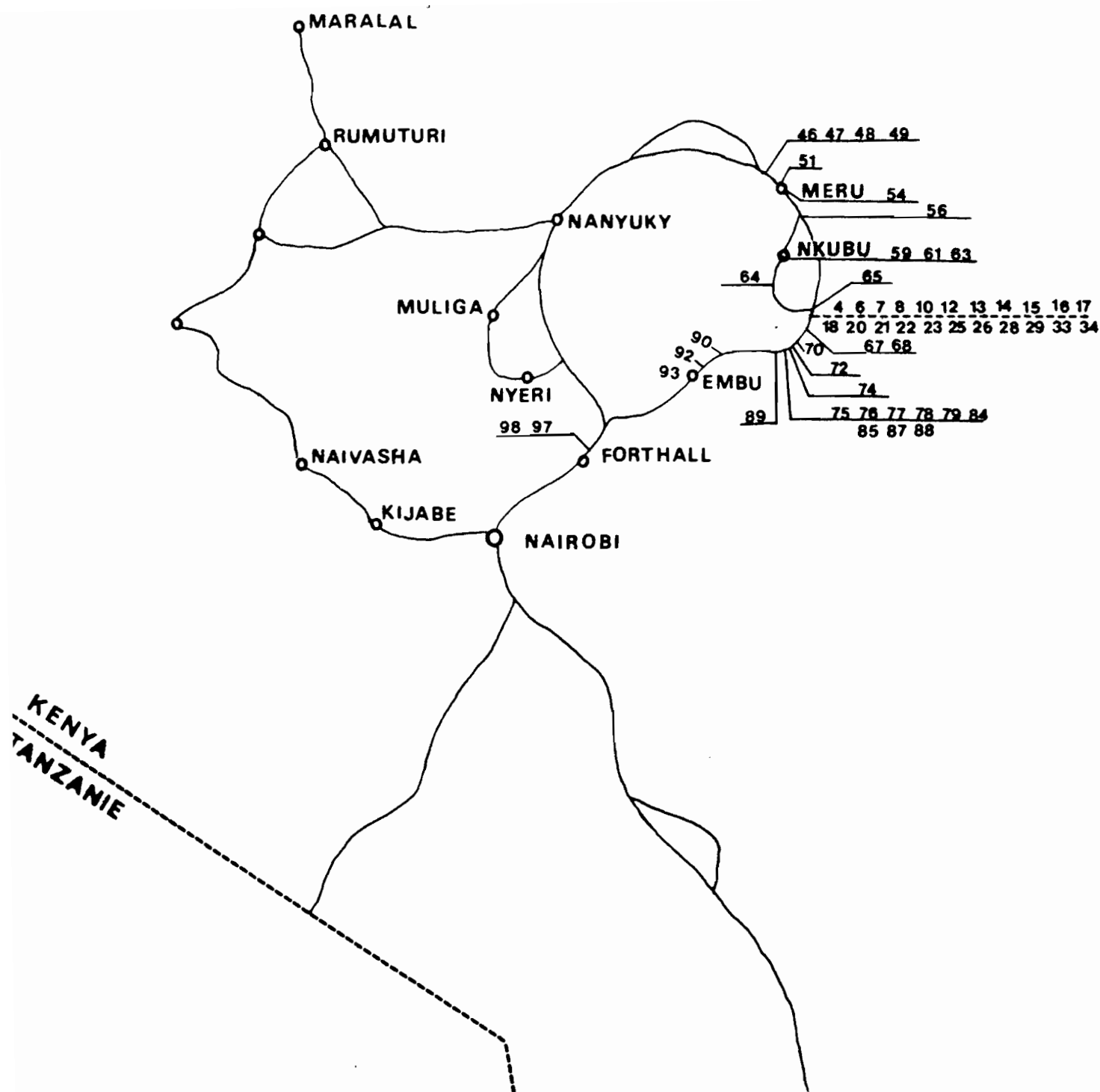
Chaque numéro représente une souche prélevée. La lettre K et la double lettre KK précédant les numéros représentent les clones ramenés respectivement de la première et deuxième prospection effectuée en Afrique de l'Est.



**CARTE 1: Localisation des populations diploïdes prélevées en Tanzanie**

Chaque numéro correspond à une touffe récoltée

- : population de VUGIRI
- : population de KOROGWE
- ★ : population de BAGAMOYO



Carte 2 : localisation géographique des plantes récoltées dans la région comprise entre Meru et Embu (Kenya ).

— : K  
 - - - : KK



## II. LES MARQUEURS DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE

### A. Systèmes enzymatiques étudiés

Neuf enzymes sont concernées ; elles sont composées de :

4 oxydoréductases : Malate déshydrogénase (MDH), Isocitrate déshydrogénase (ICD), Phosphogluconate déshydrogénase (PGD), Shikimique déshydrogénase (SKDH).

2 transférases : Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT), Phosphoglucomutase (PGM).

2 hydrolases : Estérases (EST), endopeptidase (EP)

1 isomérase : 6 phosphoglucose isomérase (PGI).

### B. Méthodes et techniques

Les techniques de préparation d'extraits de feuilles, de migration et de coloration sont décrites par Second et Trouslot, (1980).

La méthode d'étude est la suivante :

- électrophorèse sur gel d'amidon à 14 % ;
- Tampon histidine-citrate pH 6,0 et pH 8,0 ;
- Migration à 20 mA par plaque de gel ;
- migration à environ 4°C pendant 5 à 6 heures ;
- révélation : la réaction est arrêtée à l'aide de l'acide acétique 7 % lorsque la coloration des bandes est jugée suffisante pour une lecture visuelle.

Le tableau 2 indique l'organe échantillonné et le pH de migration des enzymes révélées.

	Organe échantillonné			Migration	
	Partie blanche	Partie verte	Pollen	pH 6	pH 8
MDH	.		.	.	
ICD	.				.
PGD	.				.
SKDH	.				.
GOT		.		.	.
PGM		.			
EST		.		.	
PGI		.	.	.	
EP	.				.

Tableau 2 : Organe échantillonné et pH de migration en fonction des enzymes révélées.

Les protéines solubles du pollen sont extraites dans un tampon composé de 0,05 M tris-HCl, pH 8,0, contenant 14 mM 2-mercaptoéthanol et 0,2 mM EDTA (1 ml de tampon pour 2 mg de pollen). Ce mélange est stocké à 4°C pendant 4 à 12 heures sans autre manipulation (Weeden et Gottlieb, 1979). Une rondelle de 6 mm de diamètre de papier Whatman n°1, est imbibée de l'extrait puis déposée contre la plaque "anodique" du gel.

Par rapport à Second, (1980), une amélioration sensible dans la séparation des bandes les plus mobiles vers l'anode est apportée par l'addition, dans le gel, de coenzyme nicotinamide adénine dinucléotide : NAD (5 mg par plaque de gel) pour le système MDH.

### C. Résultats

#### C1. Glutamate oxaloacétate transminase (GOT)

Le système GOT est aussi connu sous le nom d'Aspartate Aminoacide transférase (AAT). L'enzyme catalyse la conversion réversible de l'aspartate et l'alpha cétooglutarate en oxaloacétate et glutamate. Le coenzyme est le pyridoxal 5 phosphate (Davidson et al., 1970 ; Hart, 1975). GOT existe sous deux formes moléculaires : l'une d'elles, anionique est présente dans la fraction soluble de la cellule ; l'autre forme est cationique et est associée à la matrice mitochondriale (Davidson et al., 1970 ; Ryan et al., 1972 ; Ryan et Fottrell, 1974).

##### C1.1. Diploïdes

L'électrophorèse sur gel d'amidon montre trois types de zymogrammes avec les diploïdes (fig. 1a).

L'interprétation génétique des zymogrammes fait intervenir un gène avec au moins deux allèles codominants.

L'analyse des hybrides F1 issus de croisements de phénotypes (A) x (B) et des descendants obtenus de (A) x (A), (B) x (B) et (A) x (I) permet de vérifier cette hypothèse (tableau 3 de ségrégation).

On désigne par GOT-1 le locus et par GOT-1A1 et GOT-1A2 les allèles correspondant aux isoenzymes de migration lente et rapide respectivement. Les individus (I) sont hybrides ; ils possèdent 3 bandes. Ceci suggère une nature dimérique de l'enzyme. La bande de position intermédiaire représente l'hétérodimère, composée par des sous-unités codées par ces allèles.

# Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT)

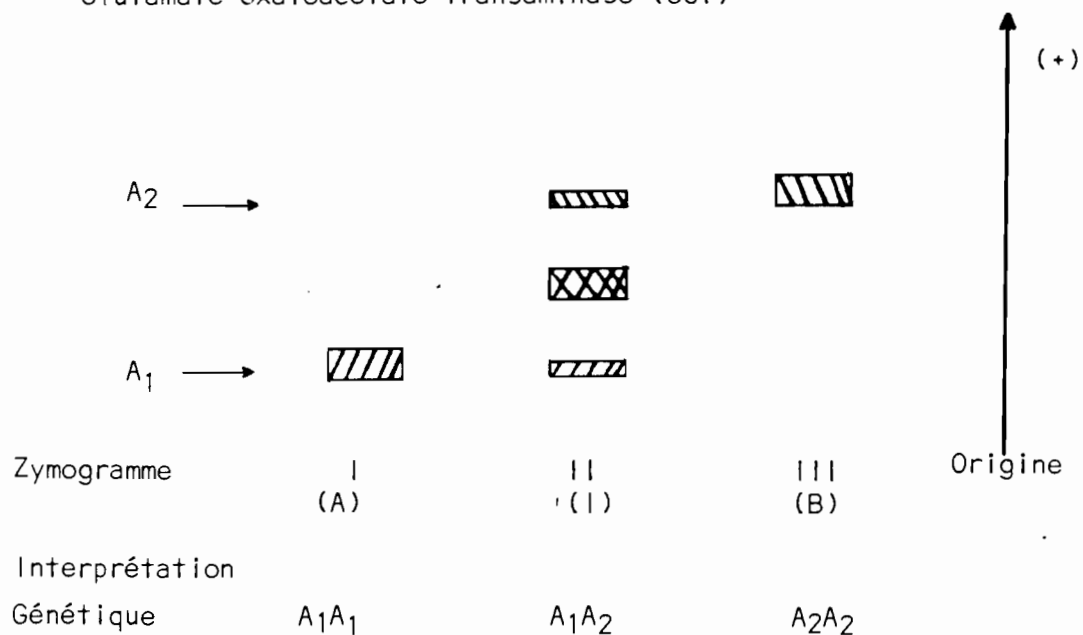


Fig-1a : Zymogrammes de diploïdes

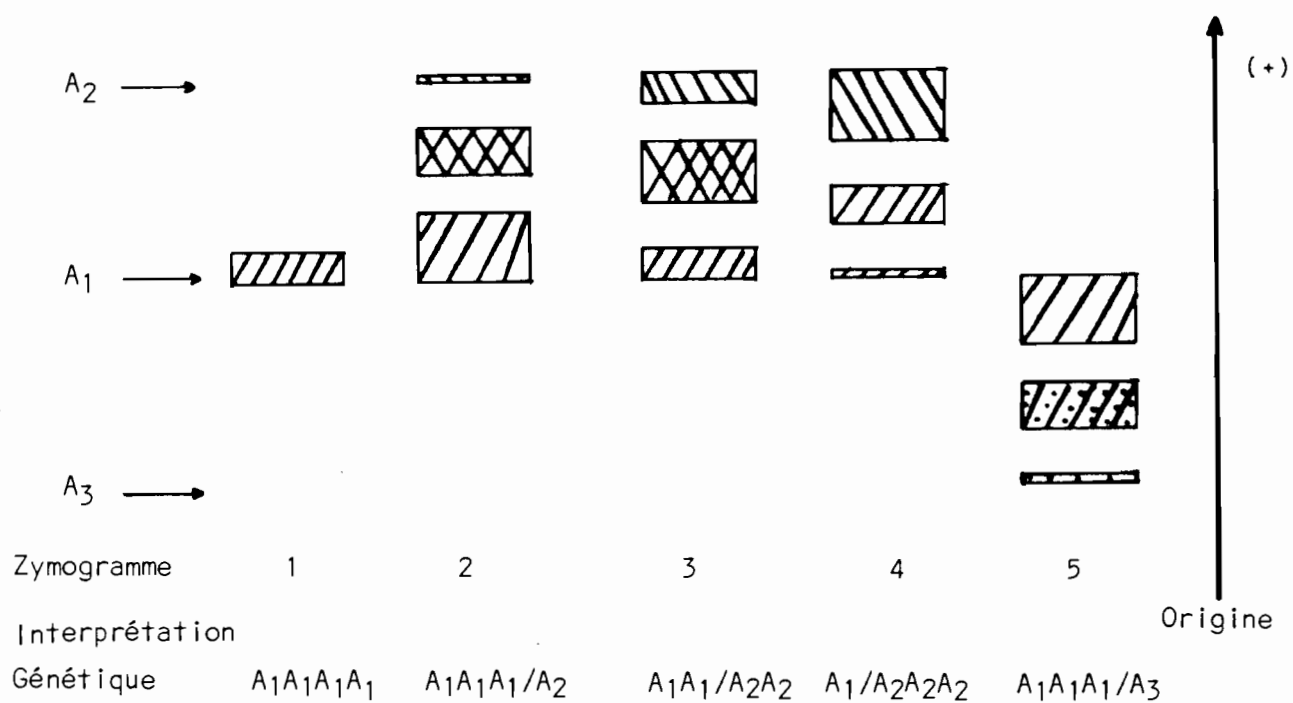


Fig-1b : Zymogrammes de tétraploïdes

Croisements	Nombre de descendants	SEGREGATION						$\chi^2_{\text{obs.}}$	$\chi^2_{(0,95)}$
		Effectifs observés			Effectifs attendus				
		A	I	B	A	I	B		
A x A	159	159	-	-	159	-	-	1,30 < 3,84	
B x B	38	-	-	38	-	-	38		
A x I	93	52	41	-	46,5	46,5	-		
A x B	79	4	75	-	-	79	-		

Tableau 3 : Ségrégation des différents phénotypes. Les effectifs de zymogrammes observés ne diffèrent pas de ceux attendus dans l'hypothèse d'un gène contrôlant GOT-1. Les 4 individus A observés dans le croisement A x B seraient issus d'autofécondations de A, les graines étant récoltées sur le parent femelle qui est A.

### C1.2. Tétraploïdes

La figure 1b indique les différents phénotypes identifiés et leur interprétation génétique. Un troisième allèle GOT-1A3 est recensé chez les plantes tétraploïdes.

### C2. Phosphoglucomutase (PGM)

#### C2.1. Diploïdes

L'enzyme présente un zymogramme à une ou deux bandes (fig. 2a). PGM est une protéine monomérique. Les individus à une bande sont homozygotes. Les hétérozygotes possèdent deux bandes.

#### C2.2. Tétraploïdes

Le profil de zymogrammes est porté sur la fig. 2b.

### C3. Estérases (EST)

Les zymogrammes observés sont variables. Les différences portent sur la présence/absence de certaines bandes, leur coloration (brune ou rouge), leur épaisseur (fine ou épaisse) ou leur dédoublement éventuel.

#### C3.1. Diploïdes

La fig. 3a indique le profil de zymogramme de feuilles juvéniles récoltées sur des plantes ayant entièrement tallé.

Deux zones se distinguent de façon nette. La zone I comporte des bandes de coloration brune ou rouge notées A1, A2, A3, B1, B2. Deux loci A et B sont proposés.

# Phosphoglucomutase (Pgm)

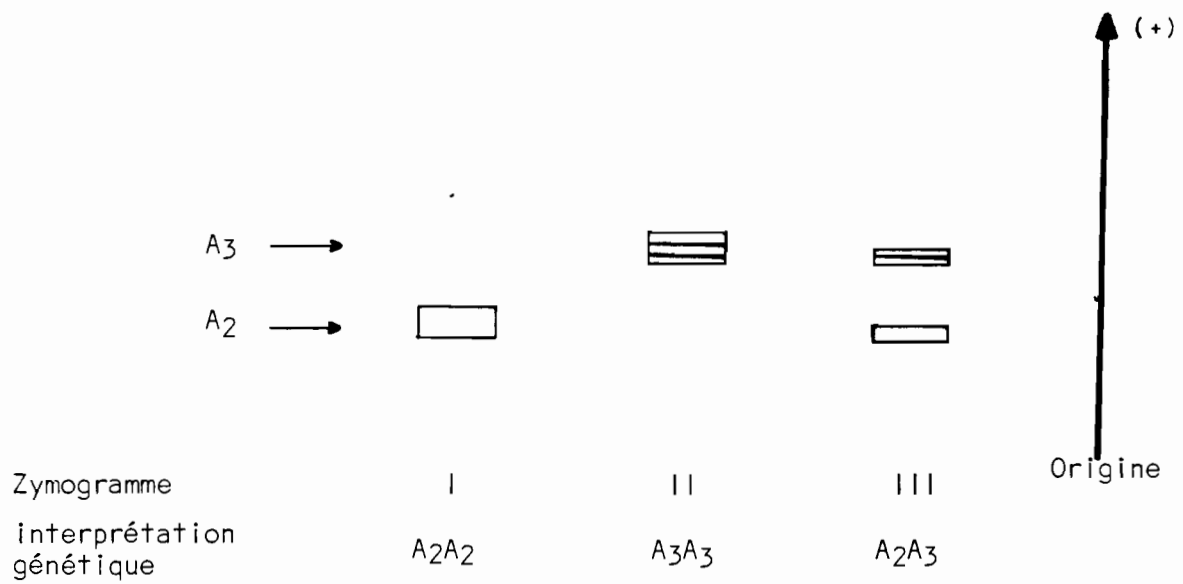


Fig-2a : Zymogrammes de diploïdes

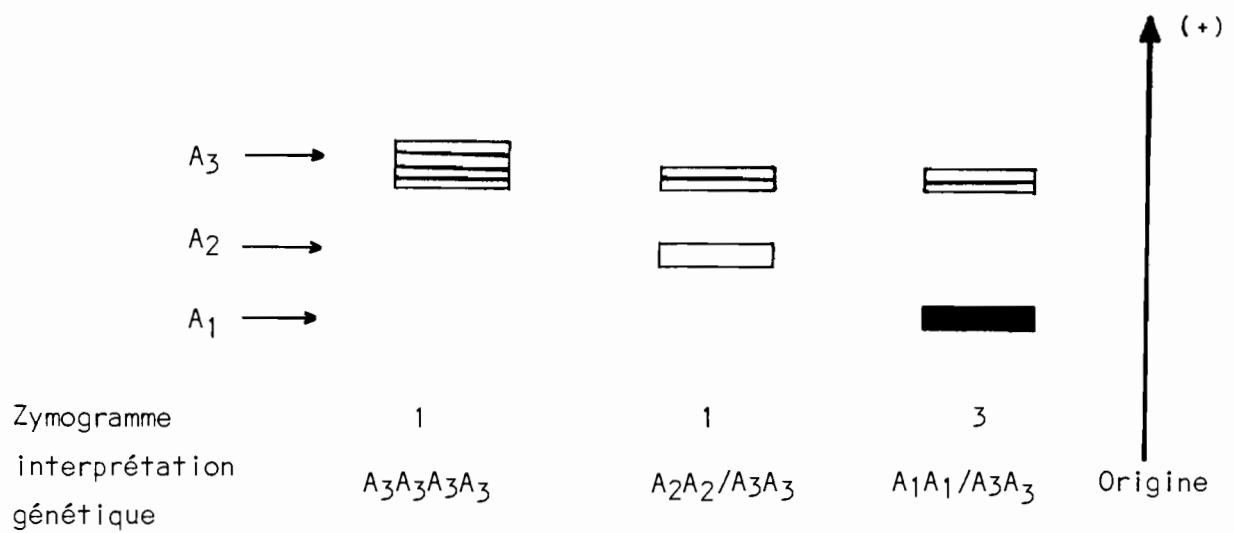


Fig-2b : Zymogrammes de tétraploïdes.

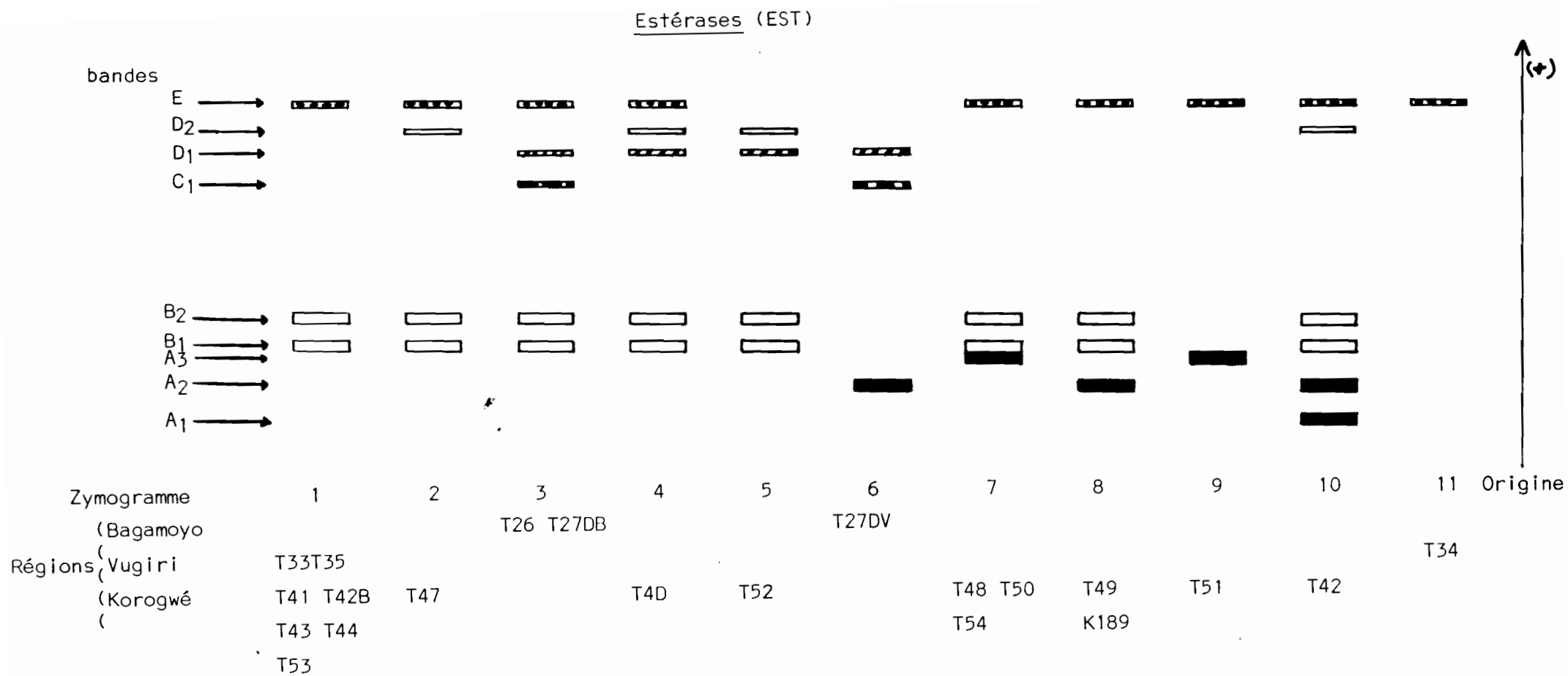


Fig.3a: profil de Zymogramme d'EST des plantes diploïdes des populations de Bagamoyo, Vugiri et Korogwé en Tanzanie.

# Estérases (EST)

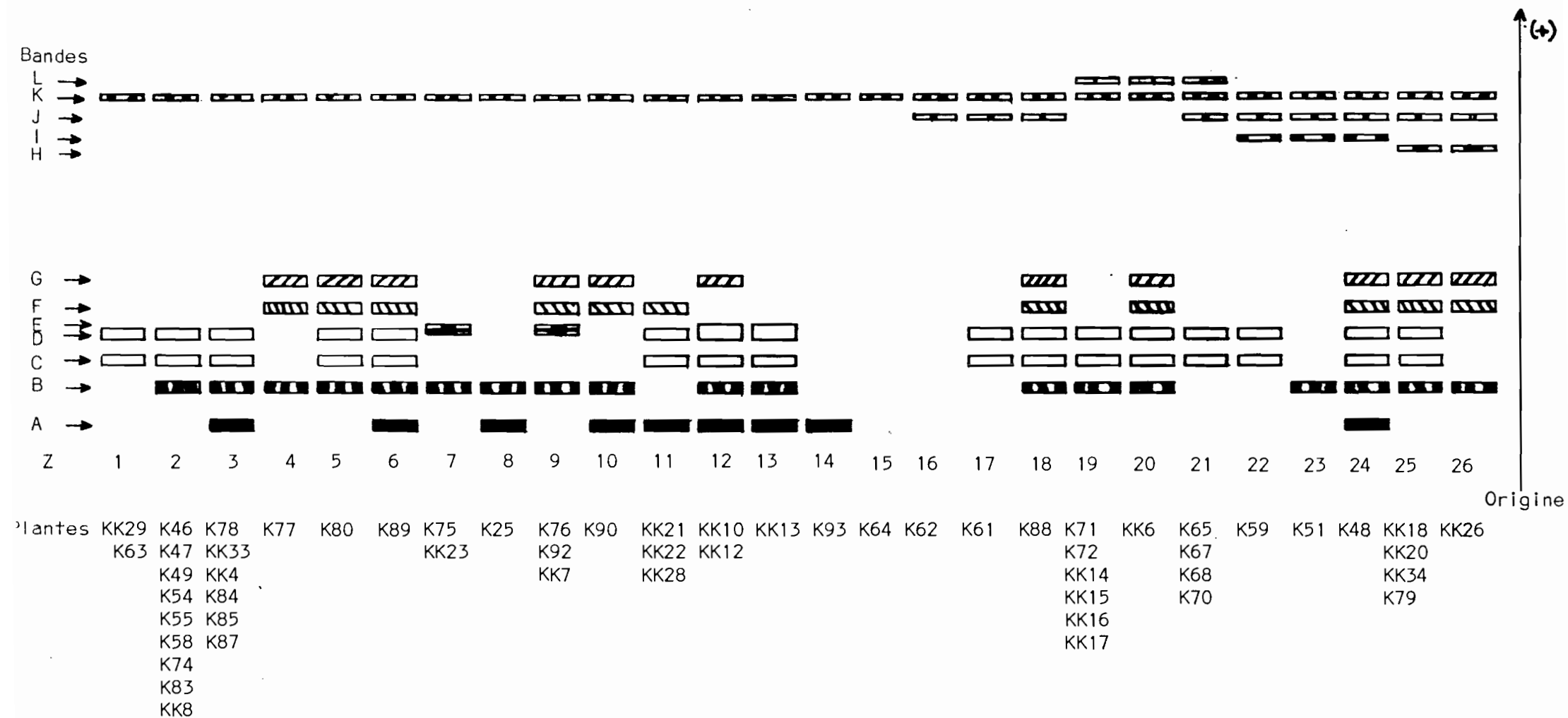


Fig-3b : Profil de zymogramme d'EST des plantes tétraploïdes récoltées entre Meru et Embu (Kenya)

La zone I possède plusieurs allèles nuls. L'enzyme est monomère.

La zone II comporte des bandes de migration plus rapide. Plusieurs allèles nuls existent également dans cette zone. 3 gènes au moins codent les bandes notées C1, D1, D2, E.

#### C3.2. Tétraploïdes

Les zymogrammes sont d'une grande complexité (fig. 3b) ; plusieurs chevauchements de bandes sont fréquents. L'hétérozygotie probablement élevée multiplie encore le nombre de bandes.

#### C4. Endopeptidase (EP)

##### C4.1. Diploïdes

Les zymogrammes sont composés d'une ou de deux bandes. Le modèle électrophorétique fait intervenir un gène. En effet l'autofécondation de plantes ayant le profil de zymogramme VIII (fig. 4a) et supposées avoir le génotype A3A4 ségrège suivant le rapport mendélien 1-2-1. 48 descendants se répartissent comme suit :

12 A3A3, 25 A3A4 et 11 A4A4

L'enzyme est active sous sa forme monomère, 4 électromorphes sont observés dans l'échantillon de diploïdes.

##### C4.2 Tétraploïdes

Le même nombre d'électromorphes inventoriés se retrouve chez les tétraploïdes analysés. Leur interprétation génétique est mentionnée sur la fig. 4b.

#### C5. Phosphoglucose isomérase (Pgi)

Les Pgi montrent un important polymorphisme dans la mobilité des isozymes.

##### C5.1. Diploïdes

Le profil des zymogrammes est porté sur la fig. 5a jointe. Les combinaisons de bandes obtenues s'expliquent par la dimérisation au hasard de deux loci. Chaque gène comporte plusieurs allèles codominants.

Le double hétérozygote produit 4 monomères différents, 10 associations sont possibles ; la superposition de plusieurs composés dimères explique le fait qu'aucun n'a plus de 8 bandes.



# Endopeptidase (EP)

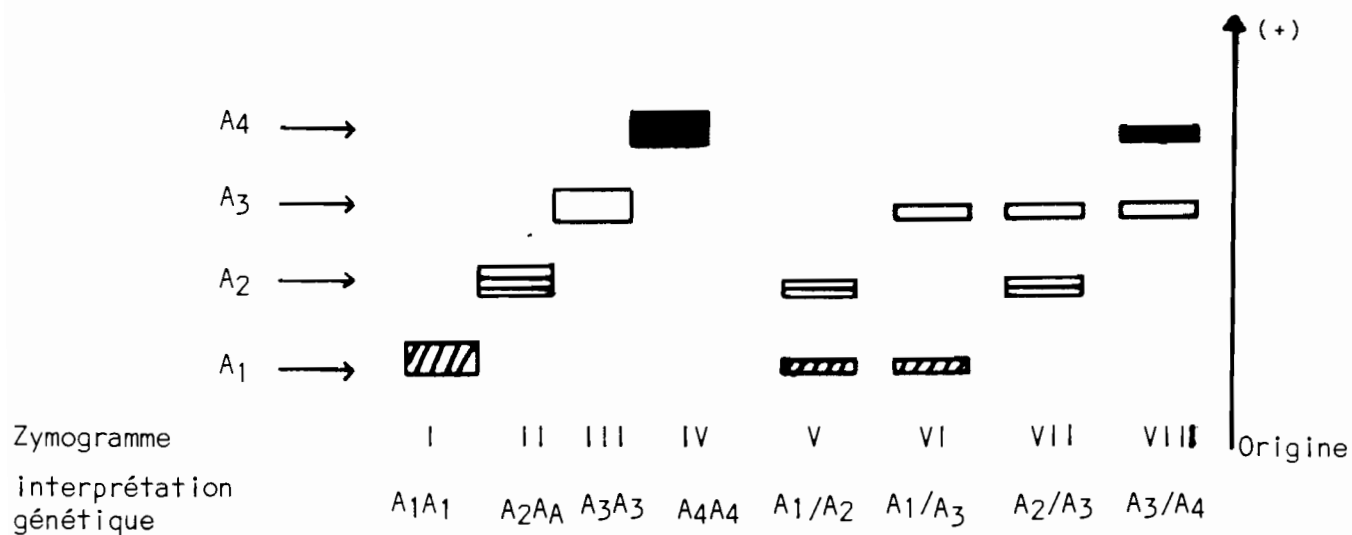


Fig-4a : Zymogrammes de diploïdes

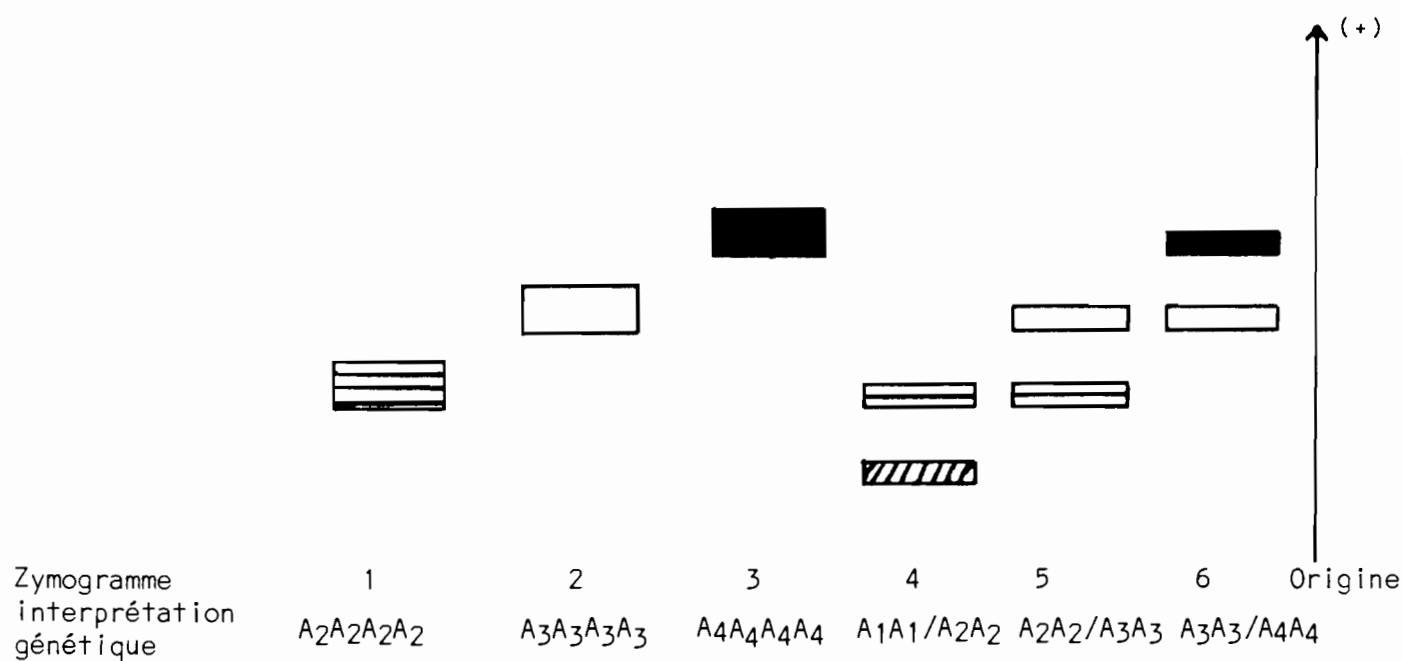


Fig-4b : Zymogrammes de tétraploïdes.

6 phospho-glucose isomérase (Pgi)

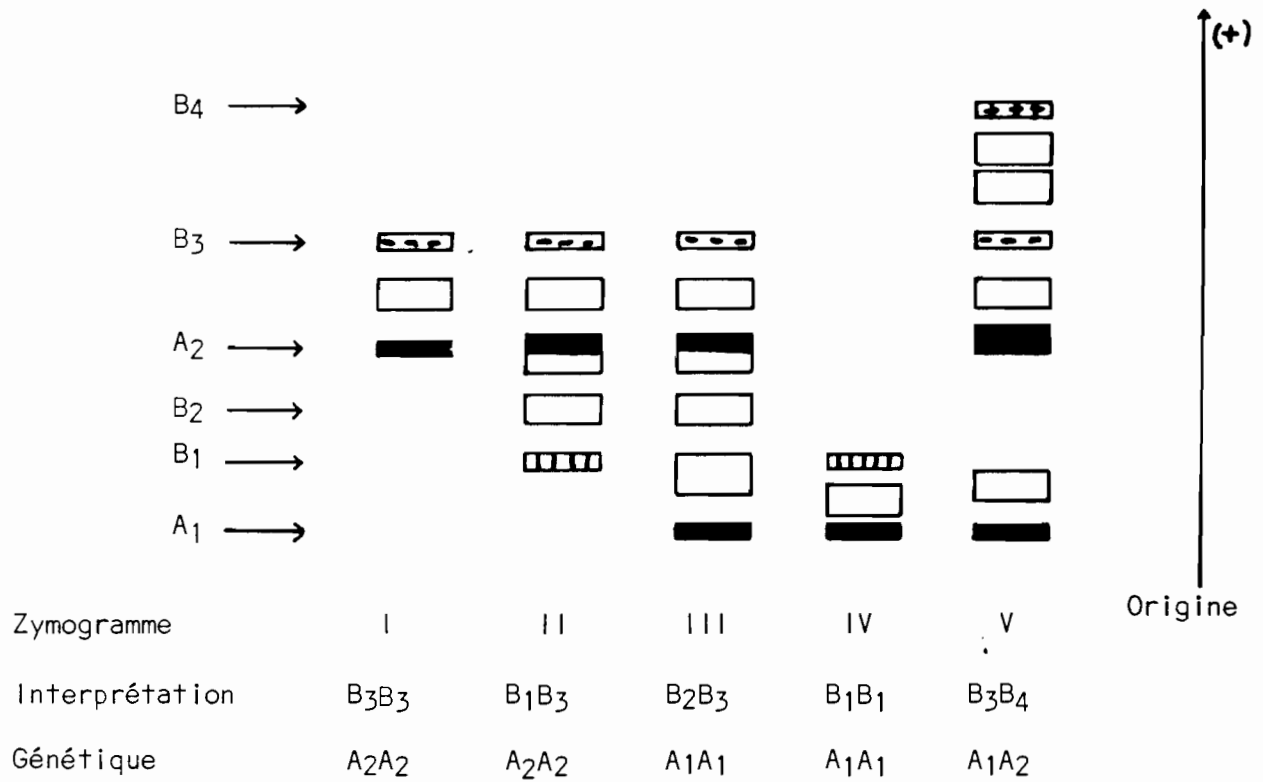


Fig-5a : Zymogrammes de diploïdes

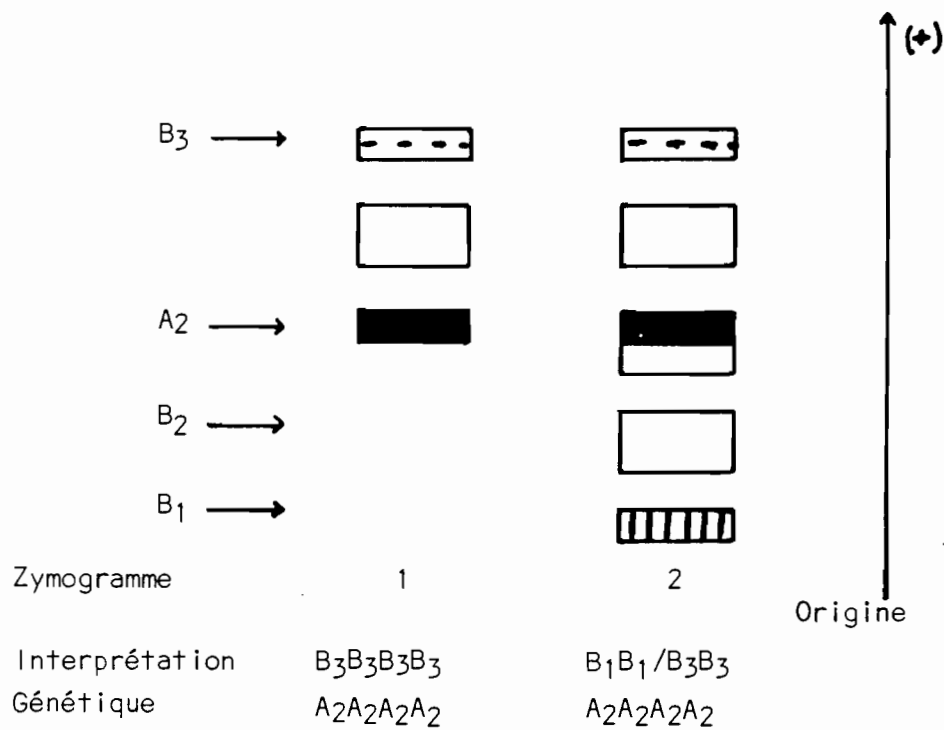


Fig. 5b : Zymogrammes de tétraploïdes.

Les ségrégations supportent l'hypothèse de deux gènes codant les différents variants Pgi de *Panicum maximum* (tableau 4 de ségrégation).

### C5.2. Tétraploïdes

Le profil de zymogrammes des tétraploïdes est représenté sur la fig. 5b.

Croisements	Génotypes	Ségrégations		$\chi^2$ obs.	$\chi^2$ (0.95)
		Observées	Attendues		
T40 x T33	Locus A A1A1 x A2A2	A1A2 45	A1A2 45		
T34 x T33	Locus A A1A2 x A2A2	A1A2 24	A2A2 29	A1A2 26,5	A2A2 26,5
				0,188	< 3,84 NS
T40 x T33	Locus B B1B1 x B3B3	B1B3 45	B1B3 45	-	-

Tableau 4 : Ségrégation observée locus par locus dans le cas de 2 gènes contrôlant le modèle électrophorétique de 6 phosphoglucose isomérase (PGI).  
NS : Différence non significative.

### C6. Phosphogluconate déshydrogénase (PGD)

2 zones distinctes d'activité sont discernables dans toutes les séparations électrophorétiques de PGD (fig. 6a et 6b).

#### C6.1. Diploïdes

La zone 1 est de migration lente et sous le contrôle d'un gène, PGD.1

Les zymogrammes de la zone 2 sont codés par deux gènes : PGD-2 et PGD-3. Les sous-unités produites par les allèles de ces 2 gènes s'hybrident pour donner des hétérodimères (Planche B).

#### C6.2. Tétraploïdes

La fig. 6b propose l'interprétation des zymogrammes chez des plantes tétraploïdes.

# Phosphogluconate déshydrogenase (PGD)

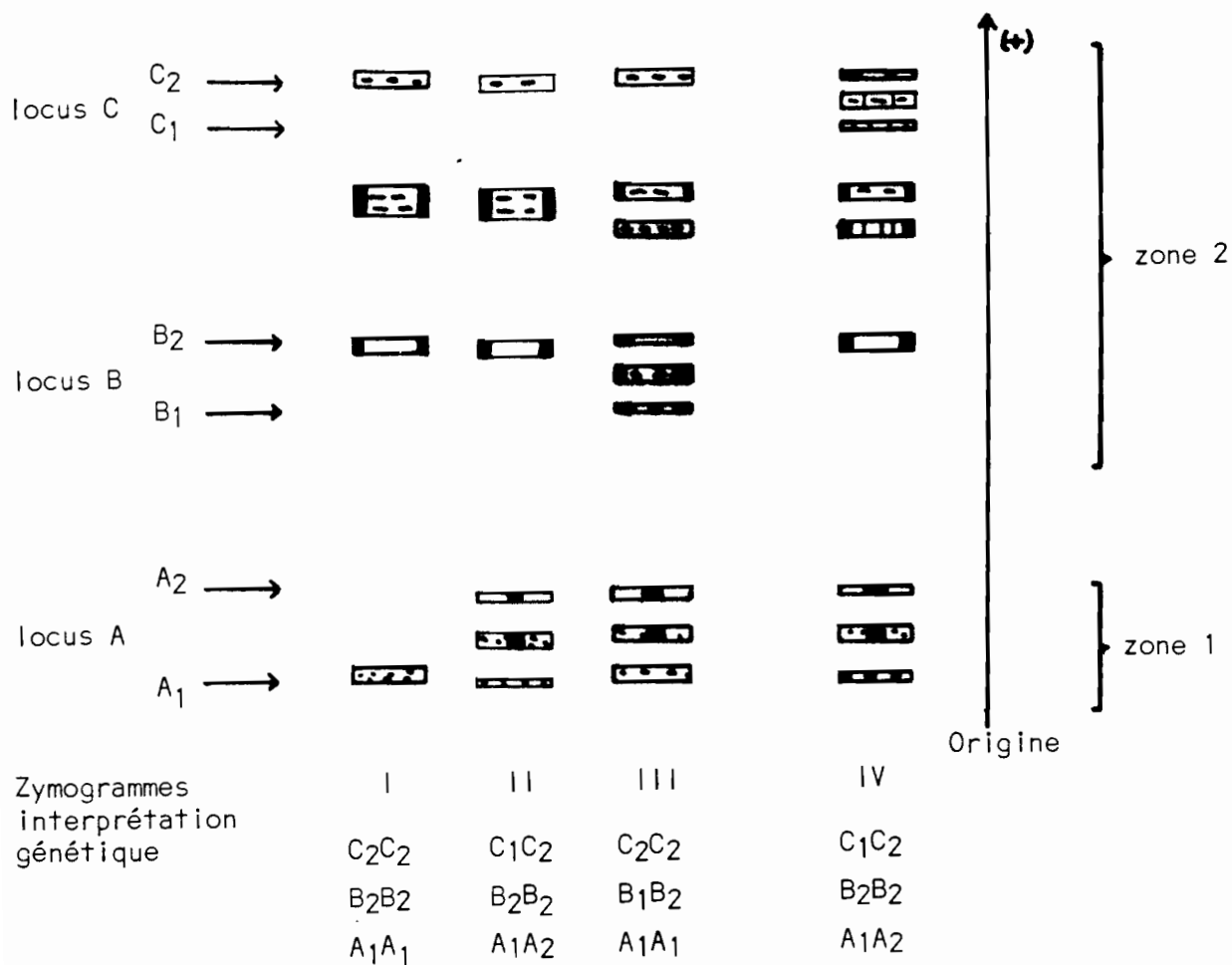


Fig-6a : Zymogrammes de diploïdes

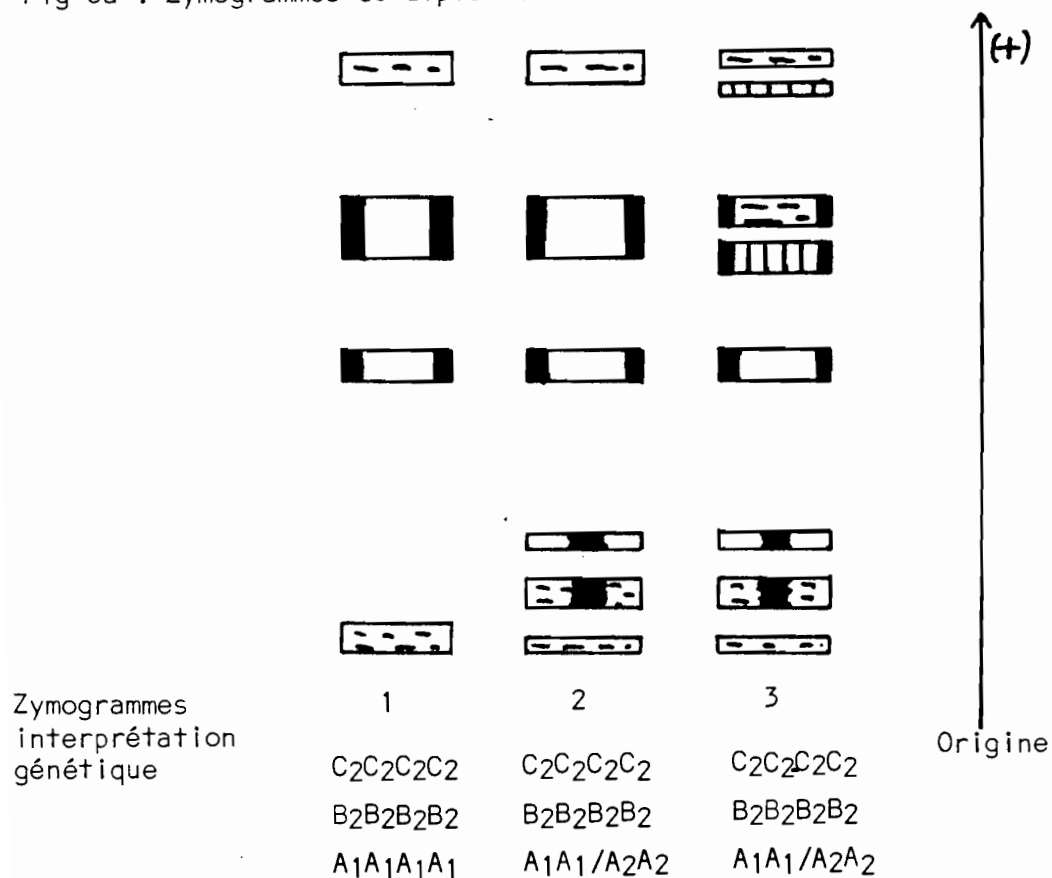


Fig-6b : Zymogrammes de tétraploïdes.

## C7. Shikimique déshydrogénase (SKDH)

### C7.1. Diploïdes

Au moins deux gènes codent les modèles électrophorétiques portés sur la fig.7a. L'enzyme est monomère. Le locus A comporte des allèles nuls. L'autofécondation de la plante (T26) de zymogramme I a permis de préciser son génotype. Les descendants au nombre de 77 ont ségrégué dans les rapports 3/4 et 1/4 : 58 portent la bande A1 et 19 sont AoAo. L'allèle nul est récessif par conséquent.

Au locus B, 4 allèles ont été observés.

### C7.2. Tétraploïdes

La fig. 7b montre les différents zymogrammes et leur interprétation génétique suggérée.

## C8. Isocitrate déshydrogénase (ICD)

### C8.1. Diploïdes

L'interprétation génétique des zymogrammes de la fig. 8a fait intervenir au moins deux loci.

Au locus désigné par A, il existe des allèles nuls. 4 allèles au moins sont observés au locus B avec l'échantillon de diploïdes étudiés.

L'enzyme est dimère. Les produits des 2 gènes s'associent pour donner des hétérodimères. Du pH 6 à pH 8 certaines bandes comigrent.

Le tableau 5 suivant confirme les hypothèses. L'autofécondation réalisée avec la plante T26 de génotype supposé AoA1 ou A1A1 pour le locus A et B1B1 pour le locus B permet de dire que : l'allèle nul Ao est récessif par rapport à A1 ; l'individu T26 est AoA1 et B1B1.

### C8.2. Tétraploïdes

Les différents zymogrammes sont schématisés sur la fig. 8b.

# Shikimique déshydrogénase (SKDH)

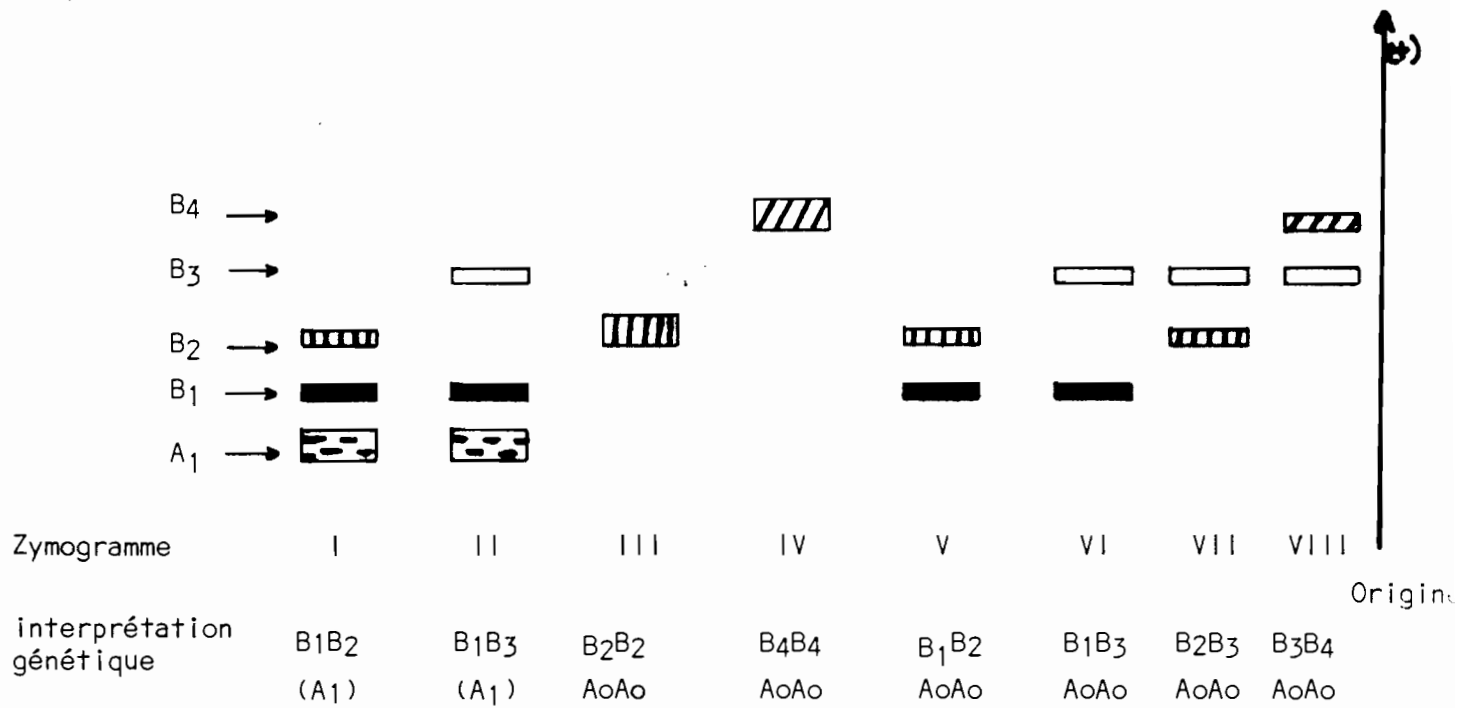


Figure - 7a : Zymogrammes de diploïdes

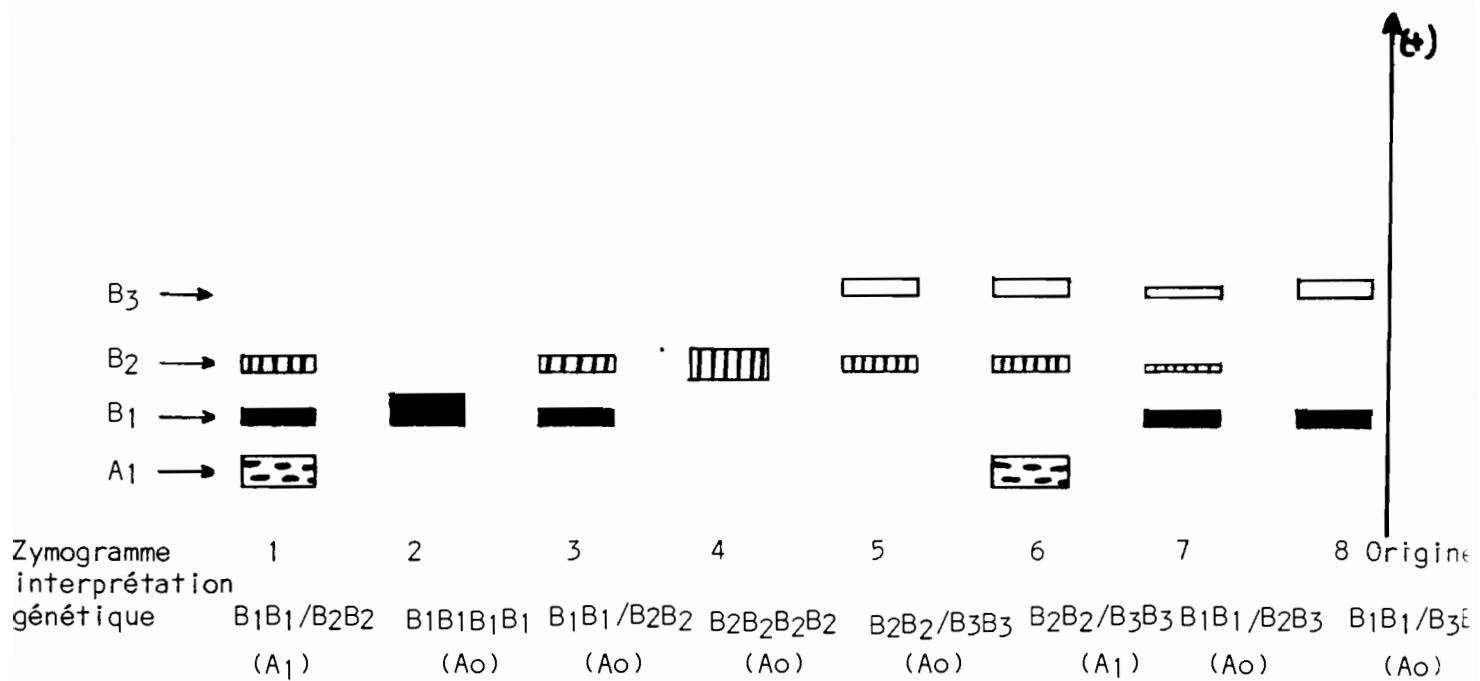


Figure-7b : Zymogrammes de tétraploïdes.

# Isocitrate déshydrogénase (ICD)

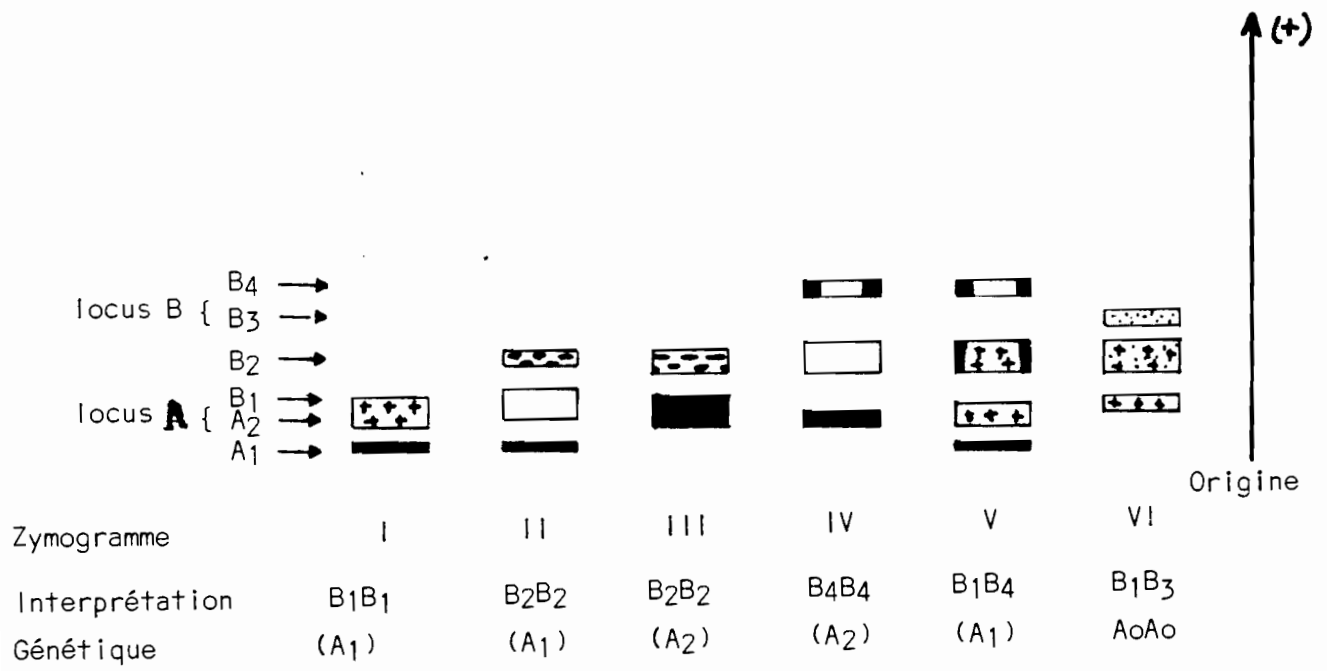


Fig-8a : Zymogrammes de diploïdes

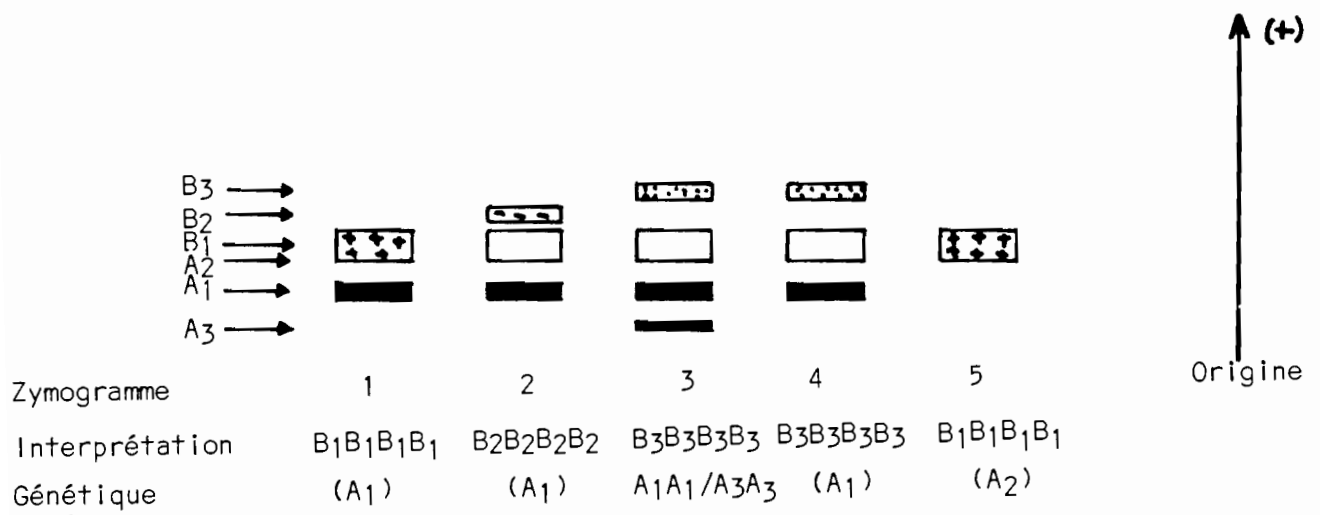


Fig-8b : Zymogrammes de tétraploïdes

Zymogramme	Génotype proposé	SEGREGATION				$\chi^2_{\text{obs.}}$		$\chi^2_{(0,95)}$
		Effectifs observés		Effectifs attendus				
		B1B1 (A1)	B1B1 (Ao)	B1B1 (A1)	B1B1 (Ao)			
	B1B1							
	A1A1 ou AoA1	65	18	62,25	20,75	0,485	<	3,84 NS

Tableau 5 : Isocitrate déshydrogénase : Ségrégation observée sur 83 descendants d'autofécondation de plante B1B1 [A1]. Les proportions de phénotypes obtenues sont en accord avec celles attendues dans le cas de 2 gènes. L'individu autofécondé est homozygote B1B1 pour le locus B et hétérozygote AoA1 pour le locus A.  
NS : différence non significative.

#### C9. Malate déshydrogénase (MDH)

Une activité malate déshydrogénase NAD dépendante est observée dans l'embryon (Souciet, 1978), les feuilles, les tiges et le pollen. La résolution obtenue avec des extraits de feuilles non chlorophylliennes à pH 6 est schématisée sur les fig. 9a et 9b.

Les plantes diploïdes analysées présentent des zymogrammes composés de 2, 4 ou 6 bandes (fig. 9a et planche A : fig. 10).

Avec du NAD dans les gels la mobilité des isoenzymes négativement les plus chargés est accrue ; la séparation des bandes est ainsi meilleure, mais la bande 5,3 se dédouble (Planche A : fig. 11).

Un test de thermosensibilité des isozymes (Planche A : fig. 12) réalisé pour vérifier la stabilité des zymogrammes a permis de définir 2 zones.

- la zone I, la plus proche du dépôt des échantillons, comporte des bandes thermostables à 60°C jusqu'à la bande 5.0,

- la zone II, la plus éloignée du dépôt des échantillons, possède des bandes à partir de 5.3 qui disparaissent quand le gel d'amidon est immergé à 60°C pendant 20 minutes.



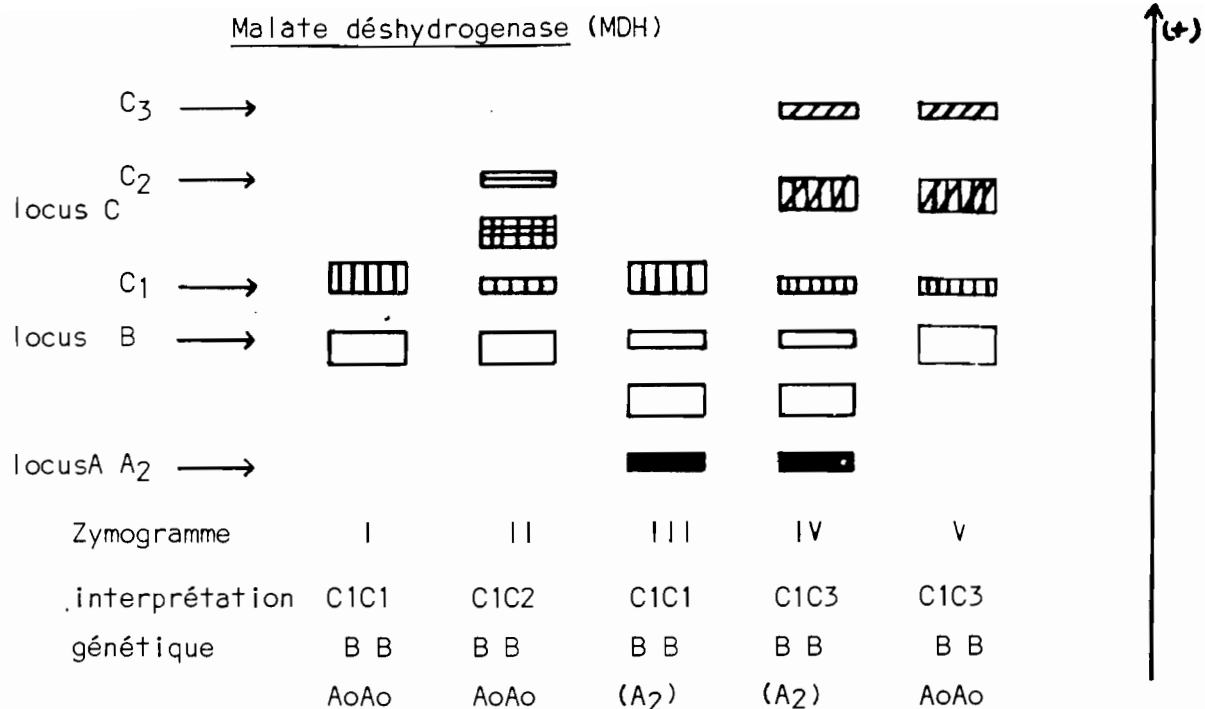


Fig. : 9a : Zymogrammes de diploïdes

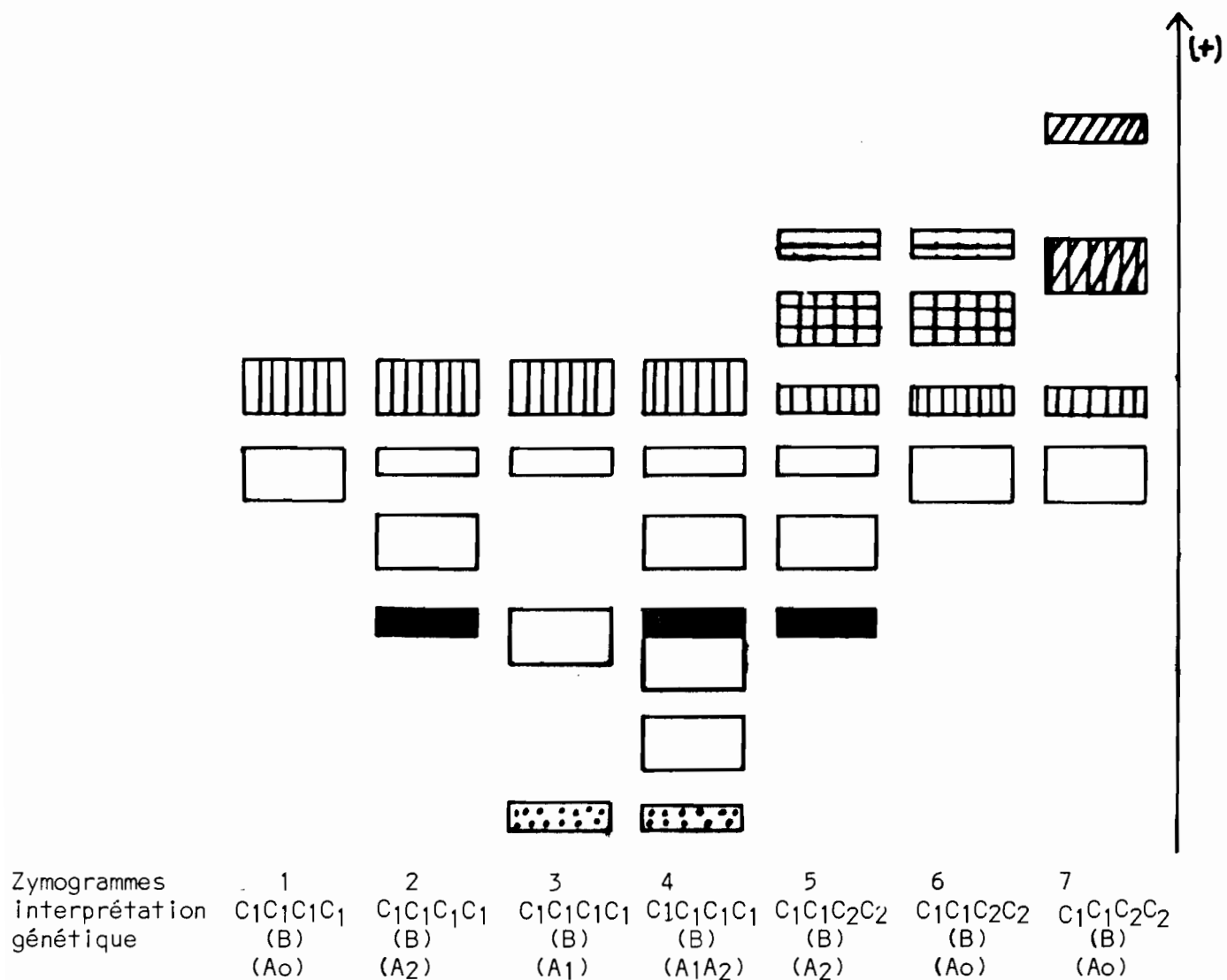


Fig. 9b : Zymogrammes de tétraploïdes.

C9.1. Déterminisme génétique des bandes de la zone I : mise en évidence de 2 gènes : Mdh-1 et Mdh-2

2 phénotypes sont distingués. La bande 5.0 est présente chez tous les individus analysés. Quand des clones ayant uniquement la bande 5.0 sont autofécondés ou croisés entre eux, leurs descendances ne ségrègent pas (pour un effectif de 181). Un allèle homozygote contrôle la synthèse de cet isoenzyme.

Des plantes à 3 bandes (4.0 ; 4.5 ; 5.0) autofécondées ou croisées entre elles, donnent presque exclusivement des zymogrammes composés des 3 bandes indiquées (pour 178 descendants examinés, 174 sont à 3 bandes et seulement 4 ont une bande (celle de position (5.0)).

L'obtention d'individus à bande unique 5.0 suggère la présence d'allèles nuls dans cette zone.

Ainsi l'existence de deux gènes est proposée pour expliquer les profils de zymogramme de la zone I :

- Mdh-1 désignera le gène dont les allèles les moins rapides dans la migration peuvent être présents ou absents ;
- Mdh-2, contrôle la synthèse d'une protéine monomorphe fixée pour un allèle (bande 5.0).

Les sous-unités codées par les allèles des deux gènes s'hybrident. L'isoenzyme supposé être un hétérodimère intergène au niveau des feuilles, apparaît dans les zymogrammes d'extrait de pollen.

C9.2. Déterminisme génétique des bandes de la zone II : mise en évidence de Mdh-3

Cette zone est composée de :

- une bande (gel sans NAD) ou de 2 bandes (gel avec NAD) ;
- 3 ou 4 bandes dans les conditions de gels respectivement sans et avec NAD ;
- et 3 bandes.

L'isoenzyme lent qui se superpose à l'isoenzyme majeur à la position 5.3 (Planche A : fig. 11) en absence de NAD est supposé secondaire (Shaw, 1969) et n'est pas pris en compte dans l'étude du déterminisme génétique.









Croisements		Nombre de descendants	SEGREGATION Mdh-3				$\chi^2$ obs	$\chi^2(0,95)$
C1C1 x C1C1	 x 	86	86 (86)	-	-	-	-	-
C1C1 x C1C3	 x 	91	38 (45,5)	-	-	53(45,5)	2,46	< 3,84 NS
C1C2 x C1C3	 x 	117	71(44,25)	-	-	75(88,5)	32 (44,25)	21,61 > 5,99 *
C1C2 x C1C2	 x 	32	12(8)	20(16)	0(18)	-	-	*

Tableau 6 : Ségrégation observée des génotypes (suggérés) dans le cas d'un gène avec 3 allèles codominants de la zone II du zymogramme des Mdh anodiques.

(Les nombres entre parenthèses représentent les effectifs théoriques selon une ségrégation mendélienne)

NS : différence non significative

\* : différence significative à 5 %.

Les descendances d'autofécondations ou de croisements entre plantes possédant uniquement la bande 5.3 sont homogènes au zymogramme des parents (tableau 6 de ségrégation).

Le rapport mendélien 1 : 1 obtenu en croisant les phénotypes une bande par les individus à 3 bandes suggère un contrôle monogénique de la zone II.

La distorsion constatée dans la proportion des génotypes issus des croisements Mdh-3C1C3 x Mdh-3C1C3 d'une part, et Mdh-3C1C2 x Mdh-3C1C2 d'autre part, (tableau 6 de ségrégation) serait imputable à une différence dans la levée de la dormance des graines récoltées.

### C9.3. Action de l'acide ascorbique sur les isoenzymes de la zone II

L'acide ascorbique en solution aqueuse (à 8 %, pH 2,1), ajouté au broyat de feuilles, supprime l'activité des seuls isoenzymes codés par Mdh-3. Goodman et al. (1980) montrent que les Mdh anodiques de maïs inactivées par ce traitement acide sont des Mdh liées à la fraction soluble du cytoplasme de la cellule. Par analogie, chez le *Panicum*, les isoenzymes de Mdh anodiques liés à la fraction mitochondriale (mMdh) seraient codés par Mdh-1 et Mdh-2 et ceux liés au cytosol (s Mdh) par Mdh-3.

Une migration plus rapide des seules Mdh-3 imputable à l'addition de NAD dans les gels (Planche A : ,fig. 11) montre une différence importante entre Mdh-3 et les autres Mdh anodiques (Tostain et al., 1985).

### C9.4. Observation des isoenzymes de grains de pollen

Les zones I et II des Mdh sont observées avec du pollen de plantes diploïdes isolées.

Pour la zone I, les isoenzymes supposés être des hétérodimères intergènes Mdh-1, Mdh-2 persistent confirmant ainsi le contrôle par 2 gènes. Par contre, la bande intragène, en position intermédiaire de la zone II des individus à 3 bandes disparaît.

### III. ETUDE DE LA DIVERSITE ENZYMATIQUE DES POPULATIONS DIPLOIDES ET TETRAPLOIDES DES SYSTEMES GOT ET MDH

#### A. Etude de la diversité enzymatique de GOT

##### A1. Dans les populations de diploïdes

Les effectifs assez faibles des différentes populations étudiées ne permettent pas d'estimer les fréquences alléliques et de les comparer région par région. Cependant la variation et la distribution géographiques des génotypes et allèles de GOT sont portées sur le tableau 7.

Régions	Effectifs	Phénotypes	A	I	B	Allèles	
		Génotypes	A1A1	A1A2	A2A2	A1	A2
Bagamoyo (Marécage)	3		-	-	3	-	6
Korogwé (plaine)	15		15	-	-	30	-
Vugiri (altitude 900m)	3		2	1	-	5	1
TOTAL	21		17	1	3	35	7

Tableau 7 : Variation et distribution géographiques des génotypes et allèles de GOT-1 chez quelques populations de diploïdes du Nord-Est de la Tanzanie.

Sur un effectif total de 21 individus, 20 sont homozygotes parmi lesquels 17 homozygotes pour l'allèle GOT-1A1 et 3 pour GOT-1A2. Une seule plante est hétérozygote, GOT-1A2/A2.

On note un génotype différent à Bagamoyo et à Korogwé. Les 3 souches de Bagamoyo sont GOT-1A2/A2 alors que toutes les 15 plantes de Korogwé sont homozygotes GOT-1A1/A1.

La situation monomorphe des populations Korogwé et Bagamoyo est éventuellement due à un échantillon limité, surtout pour Bagamoyo.

A Vugiri, il y a coexistence des génotypes GOT-1A1/A1 et GOT-1A2/A2.

A2. Etude réalisée sur les autotétraploïdes artificiels et les tétraploïdes naturels récoltés à proximité de diploïdes.

Chaque autotétraploïde artificiel montre par électrophorèse de GOT le même nombre de bandes que sa forme diploïde originelle.

En ce qui concerne les tétraploïdes naturels récoltés dans la même station que des diploïdes, de nouvelles associations des sous-unités codées par les allèles du gène GOT-1 sont observées.

Les génotypes proposés sont définis à partir des différences d'intensité de coloration des bandes dues à un effet de dosage des allèles GOT-1A1 et GOT-1A2 comme indiqué sur la figure 1b.

On a :

- à Bagamoyo : T25 et T27 sont GOT-1A1/A2A2A2 ;
- à Korogwé : T45 et T55 sont GOT-1A1A1/A2A2 ;  
T46 et T57 sont GOT-1A1A1A1/A2 ;  
T56 est GOT-1A1A1A1 ;
- à Vugiri : T32 est GOT-1A1A1/A2A2 .

Par rapport aux diploïdes sexués on retrouve la prédominance de A2 à Bagamoyo et A1 à Korogwé.

A3. Etude effectuée sur les tétraploïdes naturels de la région située entre Meru et Embu (Kenya)

Les individus se répartissent entre 5 génotypes selon le tableau 8.

La proportion des plantes hétérozygotes pour le locus GOT-1 est plus élevée (65 %) que celle des homozygotes (35 %) comme l'indique le tableau 8. Cette tendance se maintient à l'intérieur de chaque type de *Panicum maximum* avec 66 %, 50 % et 88 % d'hétérozygotes pour respectivement les types A, B et C.

Les clones hétérozygotes duplex représentent dans le même ordre 32 %, 22 % et 75 % des hétérozygotes.

Tous les allèles recensés sont rencontrés dans cette population. GOT-1A1 semble être le plus courant (78 %). GOT-1A3 est très rare (2 %) et n'est trouvé que chez 5 souches (4 du type B et 1 du type C). La plante appartenant au taxon *P. infestum* est hétérozygote duplex GOT-1A1A1/A2A2.

Aucun individu homozygote ni pour GOT-1A2 ni pour GOT-1A3 n'a été identifié. Des génotypes triplex et duplex pour l'allèle GOT-1A2 existent, ce qui n'est pas le cas de GOT-1A3 où il n'y a que le type GOT-1A1A1A1/A3.

Type de Panicum	Effectif	Génotypes					Fréquences alléliques		
		A1A1A1A1	A1A1A1/A2	A1A1/A2A2	A1/A2A2A2	A1A1A1/A3	A1	A2	A3
maximum									
A	29	10	13	6	-	-	0.79	0.20	0
B	18	9	3	2	-	4	0.84	0.10	0.06
C	9	1	-	6	1	1	0.53	0.37	0.02
infestum	1	-	-	1	-	-	0.5	0.5	-
Total	57	20	16	15	1	5			
Fréquences génotypiques		0.35	0.28	0.26	0.01	0.09	0.78	0.21	0.002

Tableau 8 : Répartition des génotypes et des fréquences alléliques de GOT-1 suivant les types de *Panicum* récoltés dans la région de Meru-Embu (Kenya). 65 % des plantes sont hétérozygotes pour le locus GOT-1.

## B. Diversité enzymatique de MDH

Trois loci ont été identifiés au niveau du zymogramme des Mdh anodiques. Deux d'entre eux sont polymorphes (Mdh-1 et Mdh-3). Mdh-2 est monomorphe et n'est pas pris en compte dans l'estimation des fréquences génotypiques et alléliques des populations étudiées.

### B1. Les populations de plantes diploïdes

Seul Mdh-1A2 est rencontré dans le cas du gène Mdh-1, par contre tous les 3 allèles identifiés de Mdh-3 sont observés. Le tableau 9 indique que la majorité de Mdh-3C1 se trouve à Bagamoyo où tous les trois individus sont homozygotes Mdh-3C1,C1 et à Korogwé (voir la carte 1 de prospection de diploïdes).

Les trois plantes de Vugiri sont toutes hybrides pour le gène Mdh-3 avec le même génotype Mdh-3C1-C3. Tous les 3 allèles de Mdh-3 existent à Korogwé avec 13 individus homozygotes Mdh-3C1-C1 et seulement 2 hybrides de génotypes Mdh-3 C1-C2 et Mdh-3 C1-C3.

Régions	Nombre d'individus	Mdh-1		Mdh-3			
		allèles	A1	A2	C1	C2	C3
Bagamoyo	3	-		-	6	-	-
Korogwé	15	-		5	28	1	1
Vugiri	3	-		3	3	-	3
Total	21	-		8	37	1	4

Tableau 9 : Variation et distribution géographiques des allèles des loci Mdh-1 et Mdh-3 dans les populations diploïdes du Nord-Est de Tanzanie (populations localisées sur la carte de prospections).

B2. L'ensemble de plantes tétraploïdes récoltées entre Meru et Embu (carte de prospections 2 : Kenya)

L'allèle A1 du gène Mdh-1, absent chez tous les diploïdes étudiés, est observé chez 7 des 57 plantes tétraploïdes de cette population.

A1 est relativement rare ; la proportion des génotypes qui le possèdent est du même ordre de grandeur chez les différents types : 14 % (type A), 11 % (type B) et 11 % (type C).

Par contre A2 est le plus courant avec une répartition indiquée sur le tableau 10 : 10 %, 50 % et 77 % pour respectivement les types A, B et C.

Les deux allèles A1 et A2 ne sont simultanément présents que chez deux individus (type A et type B) et absents chez 65 % des plantes de la population.

En ce qui concerne les Mdh supposées liées au cytosol (sMdh), codées par Mdh-3, l'allèle C1 y reste majoritaire. Sa fréquence est estimée à 84 % (tableau 11). Aucune plante homozygote pour C2 ou C3 n'est observée. C3 est relativement plus rare que C2 (tableaux 11 et 12). 4 génotypes sont recensés au locus Mdh-3.

La population possède 44 % d'individus hétérozygotes.

		<u>Locus Mdh-1</u>			
		Allèles			
Type	Effectif	A1		A2	
		Présence	Absence	Présence	Absence
<i>Panicum maximum</i>					
A	29	16	100	12	104
B	18	8	64	36	36
C	9	4	32	28	4
<i>P. infestum</i>	1	-	4	4	-
Total	57	28	200	80	144

Tableau 10 : Locus Mdh-1 : Présence et absence des allèles A1 et A2 dans la population de plantes tétraploïdes de la région de Meru-Embu.



Locus Mdh-3					
Génotypes recensés					
Type	Effectif	C1C1C1C1	C1C1C1C2	C1C1C2C2	C1C1C3C3
<i>P. maximum</i>					
A	29	18	10	1	-
B	18	10	1	4	3
C	9	3	3	3	-
<i>P. infestum</i>	1	1	-	-	-
Total	57	32	14	8	3

Tableau 11 : Locus Mdh-3. Répartition des génotypes recensés selon les types A, B, C de *Panicum maximum* et le *P. infestum* de l'ensemble des plantes récoltées dans la région Meru-Embu (Kenya).

Locus Mdh-3								
Fréquences génotypiques						Fréquences alléliques		
Type	Effectif	C1C1C1C1	C1C1C1C2	C1C1C2C2	C1C1C3C3	C1	C2	C3
<i>P. maximum</i>								
A	29	0.62	0.34	0.07	-	0.89	0.10	-
B	18	0.55	0.05	0.22	0.17	0.79	0.12	0.07
C	9	0.33	0.33	0.33	-	0.75	0.25	-
<i>P. infestum</i>	1	1	-	-	-	-	-	-
Total	57	0.50	0.24	0.20	0.05	0.81	0.15	0.02

Tableau 12 : Locus Mdh-3 - Estimation des fréquences génotypiques et alléliques dans la population de Meru-Embu.

L'hétérozygotie préserve, à côté de l'allèle dominant (C1) le mieux adapté, de nombreuses variantes. Les types C avec 66 % d'hétérozygotes semblent conserver une variabilité à base de 2 allèles par rapport au type B avec les 3 allèles identifiés.

#### **IV. ANALYSE DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE DES POPULATIONS DIPLOIDES ET TETRAPLOIDES DE *PANICUM***

Les connaissances actuelles et les hypothèses relatives à la structure des enzymes sont récapitulées dans le tableau 13.

##### **Méthodes**

##### **1. Le codage des données.**

La position des électromorphes observés est mentionnée dans les figures 1 à 9.

Pour les diploïdes le codage des allèles est détaillé pour chaque système enzymatique dans les tableaux 14 : A, B, C, 15 : D, E, F et 16 : G, H. Nous avons créé autant de variables que d'allèles recensés. Elles prennent la valeur 0 pour l'absence de l'allèle, 1 pour sa présence à l'état hétérozygote et 2 pour sa présence à l'état homozygote.

Au niveau des tétraploïdes nous n'avons pu utiliser le codage des génotypes que pour le système GOT et le locus Mdh-3. Les variables prennent la valeur 4, 3, 2, 1, 0 selon que l'allèle est dosé 4, 3, 2, 1 fois ou absent.

Dans les autres cas nous n'avons pas fait intervenir des différences d'intensité de coloration que nous n'avons pas notées. En ce qui concerne les marqueurs EP, PGM, SKDH, ICD, PGI et PGD, nous avons mis 0 quand l'allèle est absent, 1 ou 2 quand il est présent respectivement à l'état hétérozygote et homozygote. La présence de chacune des bandes de Mdh-1 et de l'EST est marquée 1 et leur absence 0.

Enzyme	Classe	Locus	Structure	Electromorphes
PGI	isomérase	A	dimère	A1 A2
		B	dimère	B1 B2 B3 B4
PGM	transférase	A	monomère	A1 A2 A3
Got	transférase	A	dimère	A1 A2 A3
ICD	déshydrogénase	A	dimère	A1 A2
		B	dimère	B1 B2 B3 B4
PGD	déshydrogénase	A	dimère	A1 A2
		B	dimère	B1 B2
		C	dimère	C1 C2
SKDH	déshydrogénase déshydrogénase	A	monomère	A1
		B	monomère	B1 B2 B3 B4
MDH	déshydrogénase	A	dimère	A1 A2
		B	dimère	B1
		C	dimère	C1 C2 C3
EP	hydrolase	A	monomère	A1 A2 A3 A4
EST	hydrolase	A	monomère	A1 A2 A3 A4
		B	monomère	B1 B2 B3 B4 B5 B6
		C	monomère	C1 C2
		D	monomère	D1 D2

Tableau 13 : Caractéristiques des enzymes étudiées

### A. Système GOT

Zymogramme		I	II	III
Génotypes		A1A1	A1A2	A2A2
REGIONS	Bagamoyo	-	-	T26 T27DB T27DV
	Vugiri	T33 T35	T34	-
	Korogwé	T40 T41 T42 T42B T43 T44 T45 T47 T48 T49 T50 T51 T52 T53 T54 K189		

### B. Système PGM

Zymogramme		I	II	III
Génotypes		A2A2	A3A3	A2A3
REGIONS	Bagayomo		T26 T27DB T27DV	
	Vugiri		T33	T34 T35
	Korogwé	T53	T48 Y49 T50 T51 T189	T40 T41 T42 T42B T43 T44 T47 T52 T54

### C. Système SKDH

Zymogramme		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Génotypes		B1B2 (A1)	B1B3 (A1)	B2B2 AoAo	B4B4 AoAo	B1B2 AoAo	B1B3 AoAo	B2B3 AoAo	B3B4 AoAo
REGIONS	Bagayomo	T27DB T27DV	T26 T35						
	Vugiri			T41 T42B T49	T40	T42 T53	T43 T54	T33 T34 T44 T48 T50 T51 T52 K189	T47
	Korogwé								

Tableaux 14 A-B-C : Répartition des individus des populations diploïdes suivant les génotypes proposés et selon les systèmes GOT, PGM et SKDH.

### D. Système PGI

Zymogramme Génotypes		I	I	II	IV	V
		B3B3 A2A2	B1B3 A2A2	B2B3 A1A2	B1B1 A1A1	B3B4 A1A1
REGIONS	Bagayomo	T26	T27DB	T27DV		
	Vugiri	T33	T35			T34
	Korogwé	T42 T43 T48	T41 T47	K189		
		T53 T54	T49 T50 T51	T42B T44 T52	T40	

### E. Système EP

Zymogramme Génotypes		I	I	II	IV	V	VI	VII	VIII
		A1A1	A2A2	A3A3	A4A4	A1A3	A1A2	A2A3	A3A4
REGIONS	Bagamoyo				T27DB T27DV				T26
	Vugiri			T33			T34	T35	
	Korogwé	K189				T42	T40 T41 T42B T43 T44 T47 T48 T49 T51 T53 T54 T52		

### F. Système PGD

Zymogramme Génotypes		I	I	II	IV
		C2C2 B2B2 A1A1	C2C2 B2B2 A1A2	C2C2 B1B2 A1A1	C1C2 B2B2 A1A2
REGIONS	Bagayomo	T26 T27DB T27DV			
	Vugiri	T33 T34 T35			
	Korogwé	T40 T41 T42B T43 T48 T49 T51 T52 T50 K189	T44	T53	T42 T47

Tableaux 15 D-E-F : Répartition des individus des populations diploïdes suivant les profils de zymogrammes observés avec les systèmes PGI, EP et PGD.

### G. Système ICD

Zymogramme	I	II	III	IV	V	VI
Génotype	B1 B1 (A1)	B2B2 (A1)	B2B2 (A2)	B4B4 (A2)	B4B4 (A1)	B1B2 AoAo
Bagamoyo	T26 T27 DV T27DV					
Vugiri		T33 T34 T35				
Korogwé	T53 T44	T40 T52	T48 T54	T42 T42B T43 T47 T49 T51 T49 K189	T50	

### H. Système MDH

Zymogramme	I	II	III	IV	V
Génotype	C1C1 AoAo	C1C2 AoAo	C1C1 A1a1	C1C3 A1A1	C1C3 AoAo
Bagamoyo	T26 T27DB T27DV				
Vugiri				T33 T34 T35	
Korogwé	T40 T41 T42 T42B T47 749 T51 T53	T54	T44 T50 T48 T52 K189		T43

Tableaux 16 G-H : Répartition des individus des populations diploïdes suivant les profils de zymogrammes observés avec les systèmes ICD et MDH.

## 2. L'analyse des données

Les données codées sont réunies dans deux fichiers de base. L'un concernant les plantes diploïdes, contient 44 variables créées codant les allèles des 9 systèmes enzymatiques. L'autre fichier renferme 36 variables codant les allèles et représentant la présence ou l'absence des électromorphes.

L'assimilation des clones à des groupes différents de variabilité est vérifiée par une analyse factorielle des correspondances avec l'ensemble des variables actives. Une classification ascendante hiérarchique réalisée sur les coordonnées factorielles, permet de former les ensembles de variabilité.

### 3. Résultats

#### a. La richesse en électromorphes

Pour 42 électromorphes variables notés chez les populations diploïdes (tableau 17), le système estérase en contient 9, c'est-à-dire 46 %, formant 14 zymogrammes différents. Chez les tétraploïdes 26 zymogrammes de cette enzyme sont observés. A l'opposé la 6 phosphoglucose isomérase (PGI) est peu variable avec seulement 2 zymogrammes au maximum au niveau des tétraploïdes.

Le type C semble relativement plus riche en électromorphes que les types B et A. Le taxon *infestum* représenté par un seul individu possède 50 % des allèles recensés (tableau 18).

Locus	Total	Bagamoyo	Vugiri	Korogwé
GOT-1	2/3Z	1/1Z	2/2Z	1/1Z
PGM	2/3Z	1/1Z	2/2Z	2/3Z
SKDH(B)	4/8Z	3/2Z	3/2Z	4/6Z
PGI(A)	2/3Z	1/1Z	2/2Z	2/3Z
PGI(B)	4/5Z	1/1Z	3/3Z	3/4Z
EP	4/7Z	2/2Z	3/3Z	3/4Z
PGD (I)	2/2Z	1/1Z	1/1Z	2/2Z
PGD(B)	2/2Z	1/1Z	1/1Z	2/2Z
PGD(A)	2/2Z	1/1Z	1/1Z	2/2Z
ICD(B)	3/5Z	1/1Z	1/1Z	3/4Z
ICD(A)	2/3Z	1/1Z	2/2Z	2/2Z
MDH (C)	3/3Z	1/2Z	1/1Z	3/3Z
MDH(A)	1/2Z	0/1Z	1/1Z	1/2Z
EST (A)	3/4Z	1/2Z	0/2Z	3/4Z
EST(B)	2/2Z	2/2Z	2/2Z	2/2Z
EST(C)	1/2Z	1/1Z	0/1Z	1/2Z
EST(D)	2/2Z	1/1Z	0/1Z	2/4Z
EST(E)	1/2Z	1/2Z	1/2Z	1/2Z
-	-	-	-	-
	42	21	26	39

Tableau 17 : Nombre d'électromorphes et de zymogrammes (Z) observés par locus au niveau des 3 populations de plantes diploïdes.



Locus	Total	<i>Infestum</i>	Type C	Type B	Type A
GOT-1	3/3Z	2/1Z	3/3Z	3/3Z	2/2Z
EP	4/6Z	2/1Z	3/3Z	2/3Z	4/5Z
MDH(C)	3/3Z	1/1Z	2/2Z	3/3Z	2/2Z
MDH(A)	2/4Z	1/1Z	2/3Z	2/4Z	2/4Z
PGM	3/3Z	2/1Z	3/3Z	3/3Z	2/2Z
PGI(A)	1/2Z	1/1Z	1/1Z	1/2Z	1/2Z
PGI(B)	2/2Z	2/1Z	1/1Z	2/2Z	2/2Z
PGD(C)	2/2Z	1/1Z	1/1Z	1/1Z	2/2Z
PGD(B)	1/1Z	1/1Z	1/1Z	1/1Z	1/1Z
PGD(A)	2/2Z	1/1Z	2/2Z	2/2Z	2/2Z
SKDH(B)	3/7Z	2/1Z	2/1Z	3/5Z	3/5Z
ICD(B)	3/4Z	1/1Z	2/2Z	2/3Z	3/3Z
ICD(A)	3/3Z	1/1Z	2/2Z	2/2Z	3/3Z
EST	12/26Z	4/1Z	10/6Z	10/12Z	10/14Z
	-	-	-	-	-
	44	22	34	37	39

Tableau 18 : Nombre d'électromorphes et de zymogrammes (Z.) observés par locus selon les groupes de plantes tétraploïdes étudiées.

## b. L'organisation de la variabilité

### b1. Plantes diploïdes

Une analyse factorielle des correspondances est réalisée avec 21 plantes appartenant à 3 populations et 43 variables.

Les valeurs propres des 4 premiers facteurs et les contributions des variables sont portées sur les tableaux A1 et A2 en Annexe A.

L'axe 1 est formé par une opposition entre la population Bagamoyo et la population Korogwé. Les variables explicatives sont : pour le groupe Bagamoyo G02 et ET4 et pour Korogwé EP1, ES8, IC4, SK5 et PI1.

Le deuxième axe oppose les populations de Bagamoyo et de Vugiri à celle de Korogwé. Les variables explicatives sont : pour les groupes Bagamoyo et Vugiri ES7, PI6 et SK1, pour Korogwé ES3. Il faut noter l'isolement de l'individu T40 de la population de Korogwé dont il diffère par son génotype avec les marqueurs PGI, SKDH, ICD et la présence ou l'absence des bandes N° 7 et 8 de l'EST.

Sur le plan 1-2, on distingue nettement les 3 populations : Bagamoyo, Vugiri et Korogwé (figure 13).

#### b1.1. Les ensembles de variabilité

Une classification ascendante hiérarchique est effectuée avec les coordonnées factorielles des 4 premiers axes pour déterminer les ensembles de variabilité.

Un niveau d'agrégat considéré sur la figure 14 isole 4 groupes. Les individus T40 et T42 constituent 2 groupes. On s'attend à priori à deux ensembles : le groupe de Bagamoyo et celui de Korogwé-Vugiri. Les 3 plantes de Bagamoyo se rattachent à 30 % et se raccordent aux autres à 50 %.

#### b2. Plantes tétraploïdes

Une analyse factorielle des correspondances est réalisée avec 57 individus répartis en 3 groupes (A, B, C) plus un taxon *infestum* et 36 variables.

Les 4 premiers axes expliquent 50 % de l'inertie. Les valeurs propres et les contributions des variables sont indiquées sur les tableaux B1 et B2 de l'annexe B.

L'axe 1 isole les types C du reste (fig. 15). Les variables explicatives sont E8, SK1, EP4 et IC3.

Dans le plan 1-3, on distingue nettement les types C et A. Le type B est éclaté avec isolement de 3 individus qui possèdent en commun les caractéristiques de MD5 et IC2 (figure 15).

#### b2.1. Les ensembles de variabilité

Une classification ascendante hiérarchique est faite avec les coordonnées factorielles des 4 premiers axes. Nous avons réuni les classes situées à une distance inférieure à 0,125 (figure 17).

Un niveau d'agrégation à la distance de 0,50 permet de constater que le taxon *P. infestum* est rattaché à tous les 9 types C, à 6 types B sur 15 et 9 types A sur 29.

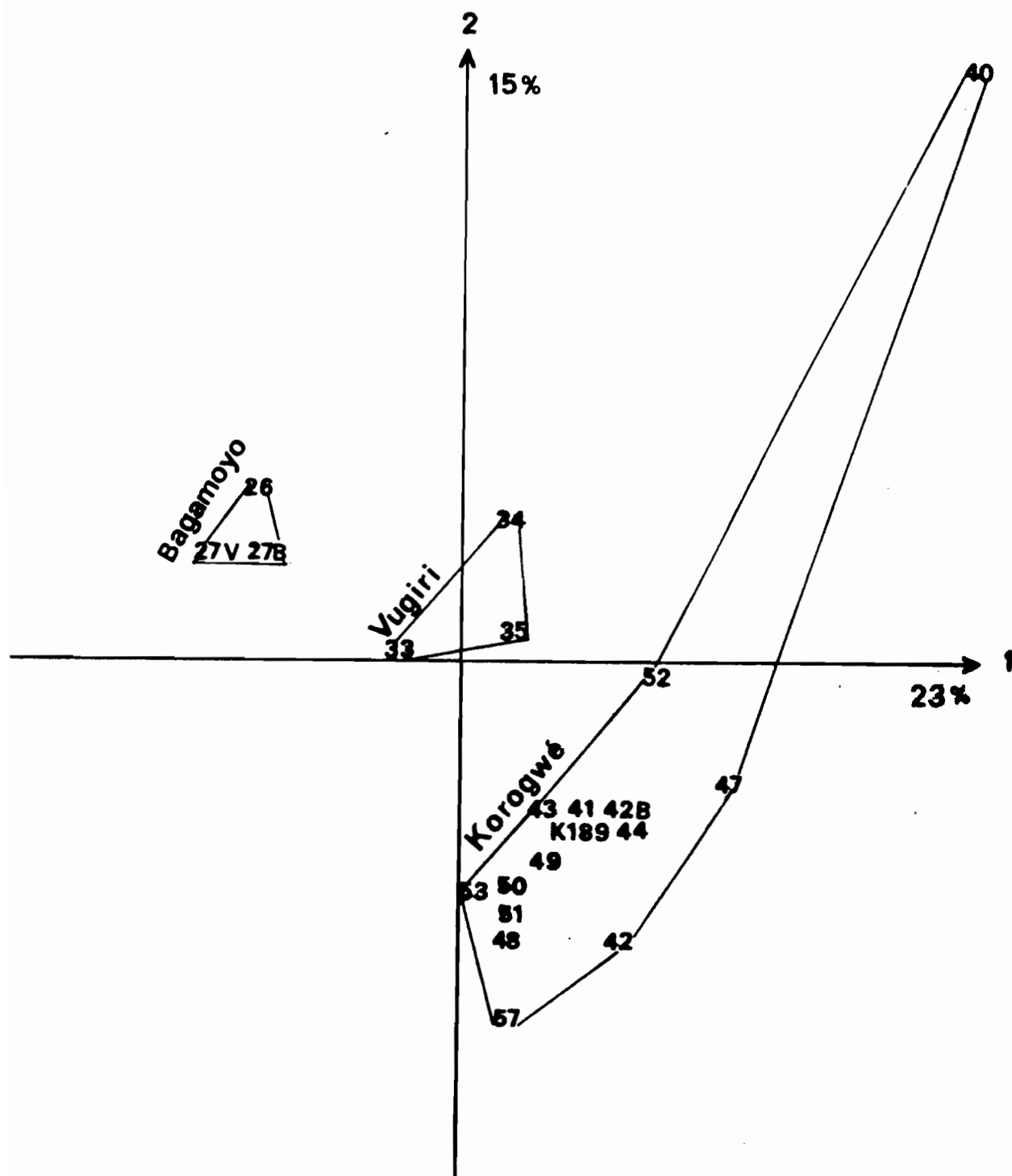


Figure 13 : Projection sur le plan des axes factoriels 1 et 2 des points représentant les génotypes des plantes diploïdes d'après leur origine.

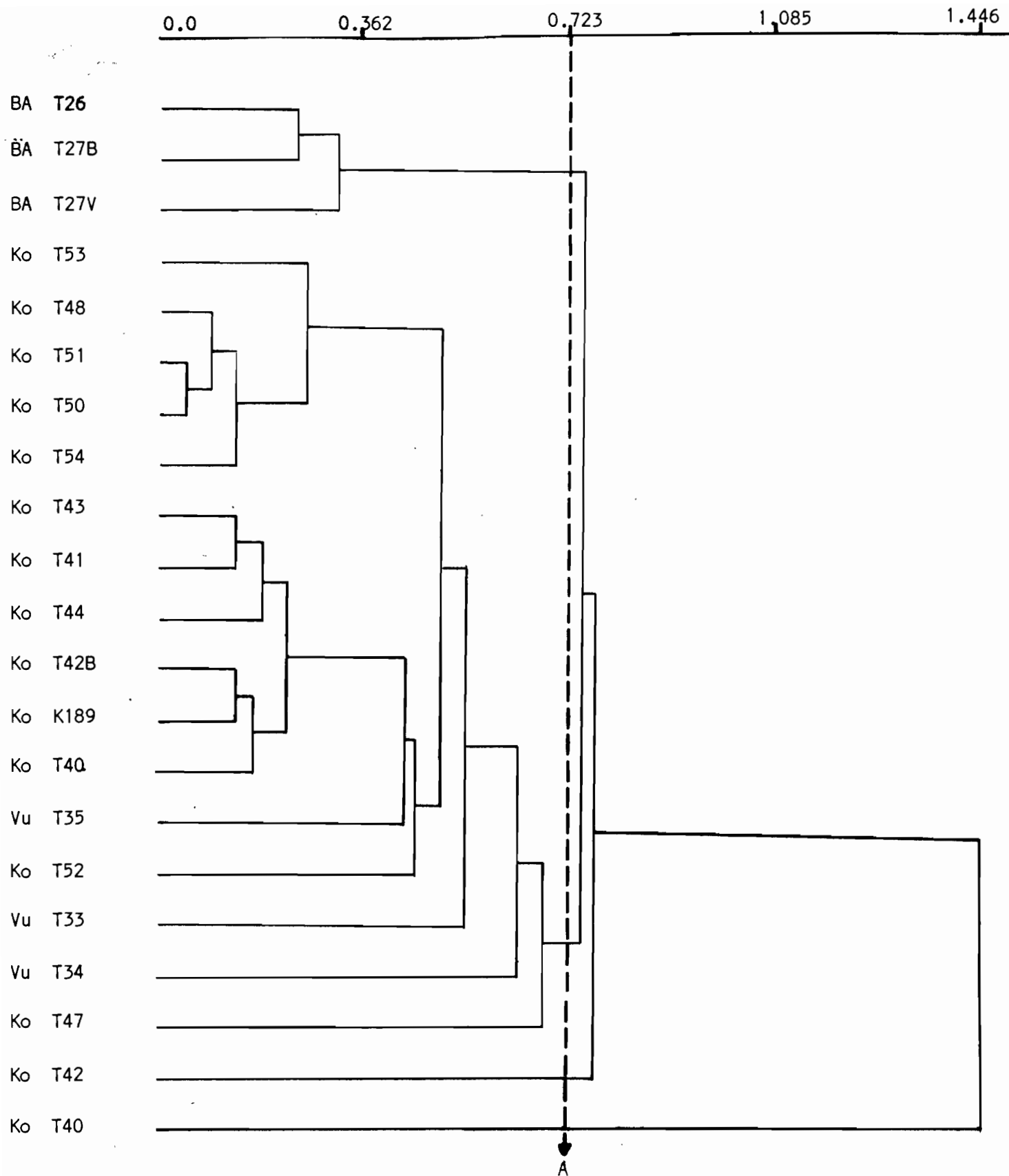


Fig-14 : Classification ascendante hiérarchique (distance du Khi-2 pondérée ; critère du saut minimal) avec les coordonnées factorielles des 4 premiers axes réalisée sur les diploïdes

A : niveau d'agrégat

BA = Bagamoyo

Vu = Vulgiri

Ko = Korogné.

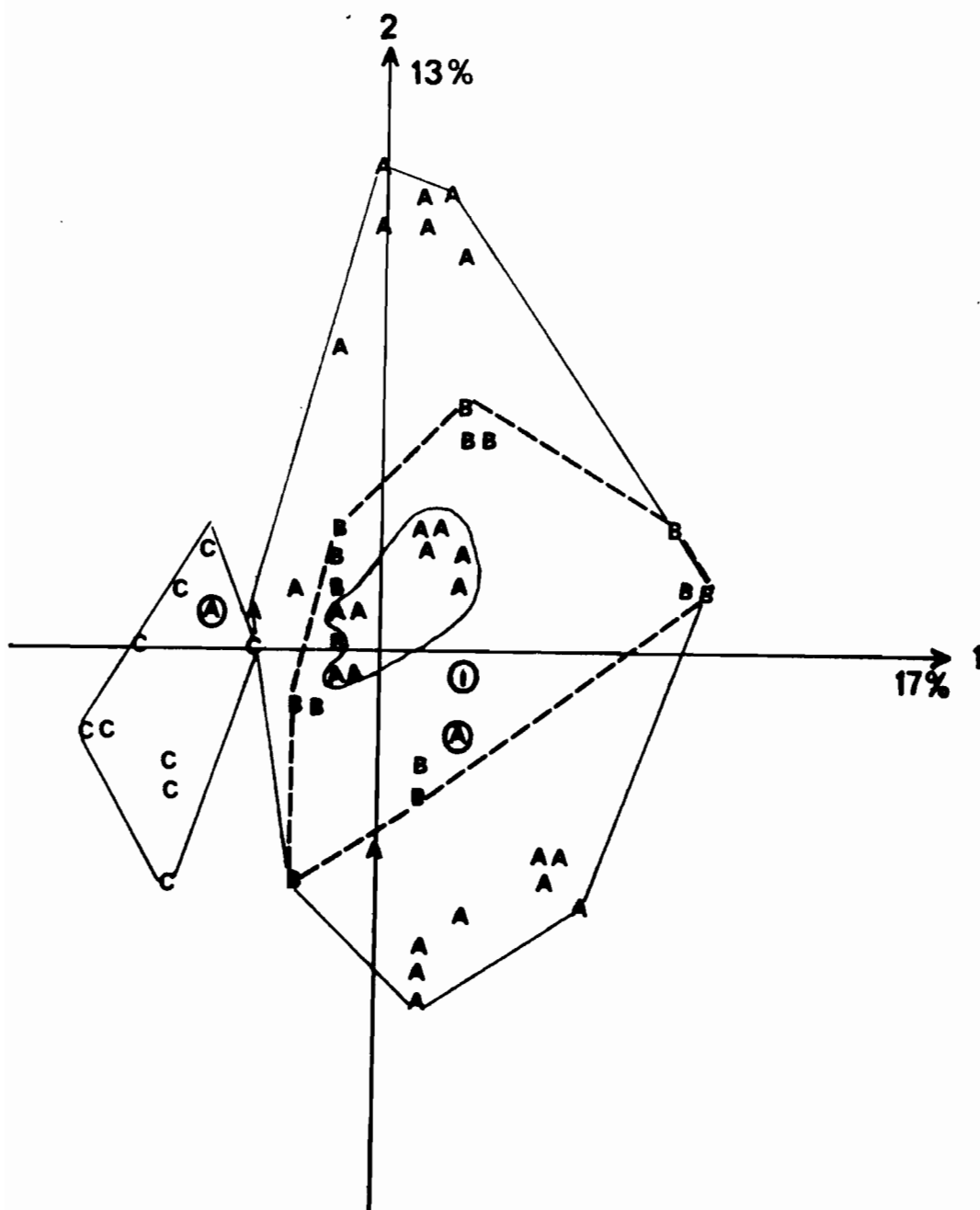


Figure 15 : Projection sur le plan des axes factoriels 1 et 2 des points représentant les plantes tétraploïdes d'après le type de *Panicum*.

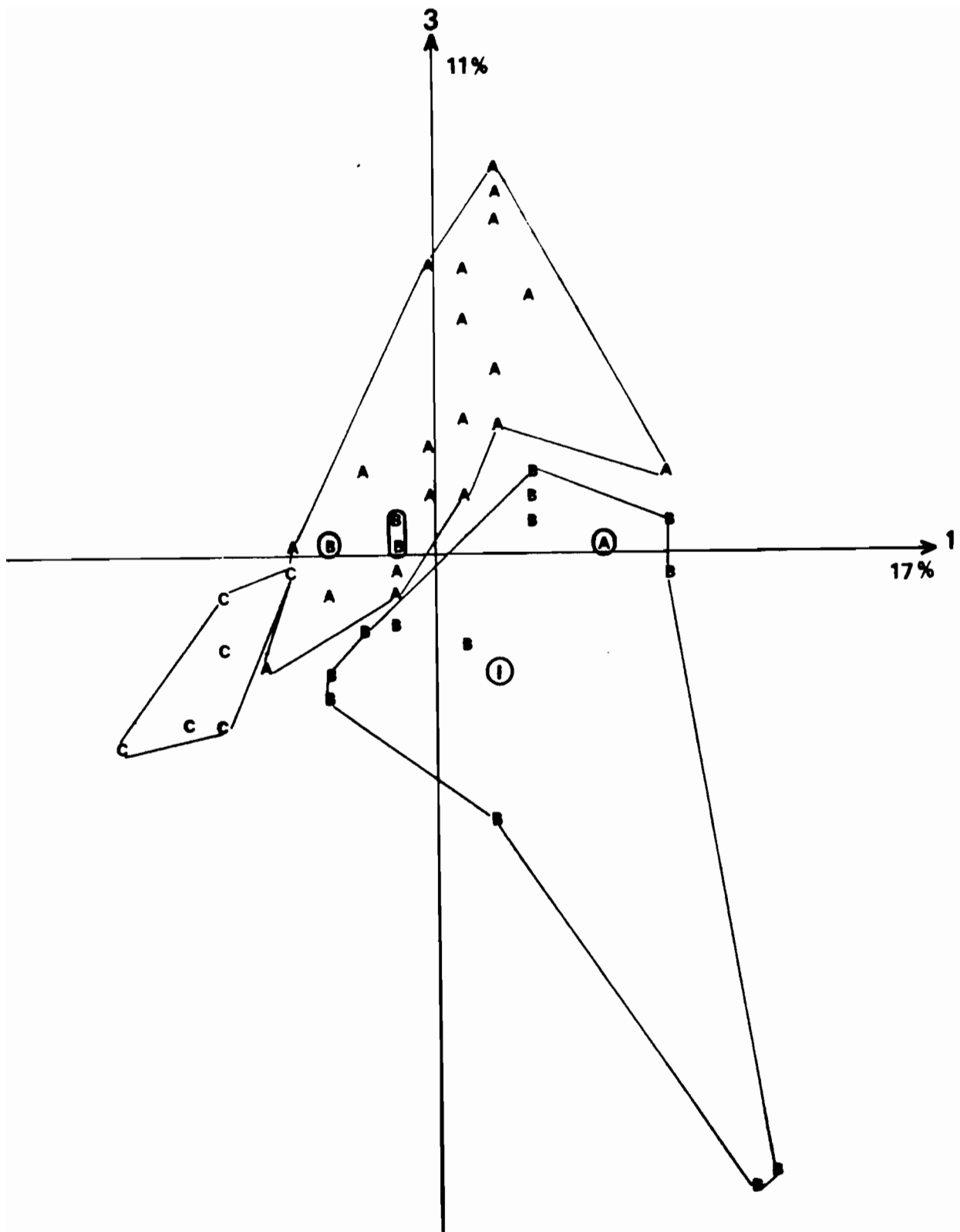


Figure 16 : Projection sur le plan des axes factoriels 1 et 3 des points représentant les plantes tétraploïdes d'après le type de *Panicum*.

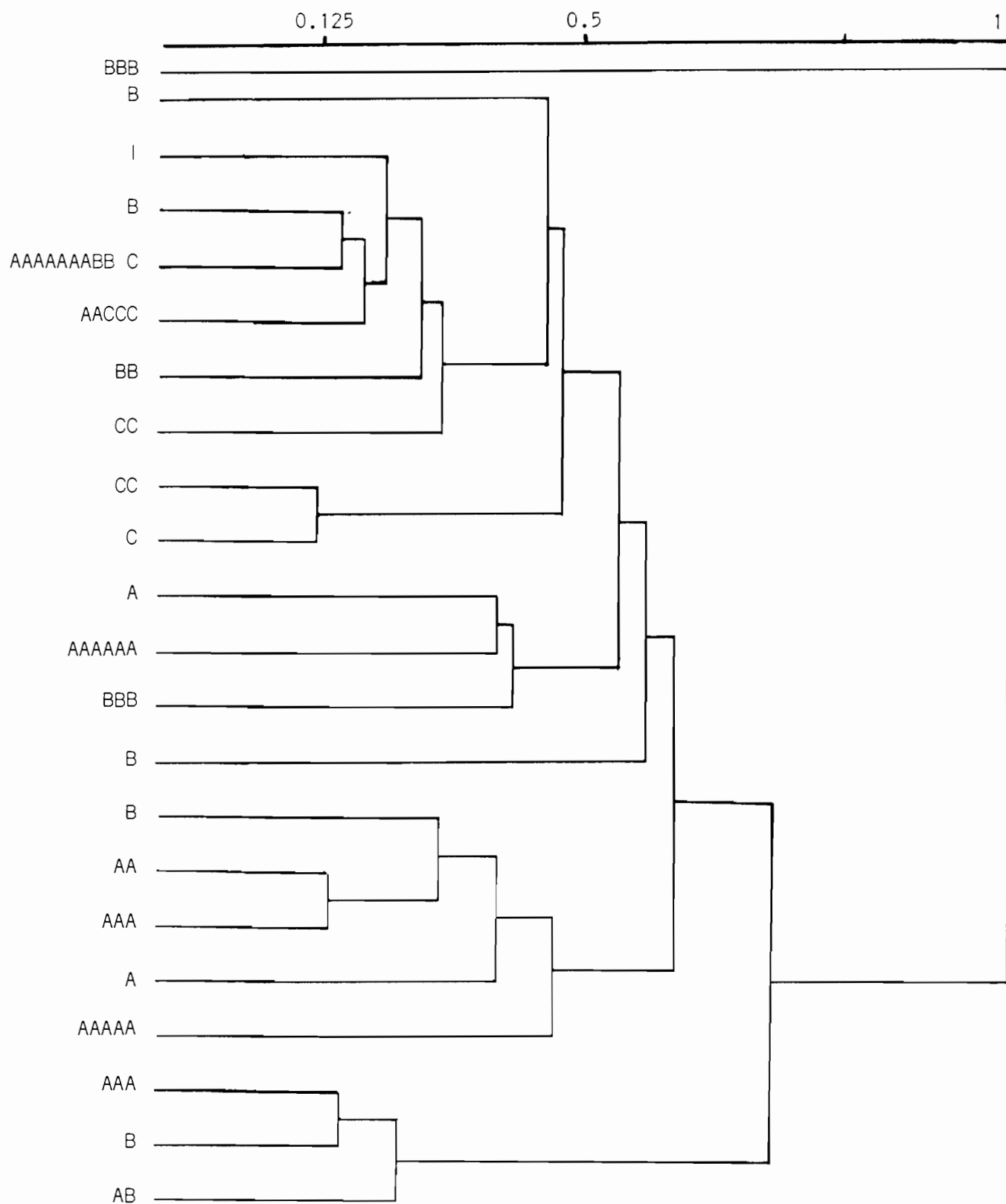


Figure 17: C.A.H. (Distance du Khi-2 pondérée, critère du saut minimal) avec les coordonnées factorielles des 4 premiers axes et réalisée sur les tétraploïdes.

## V. CONCLUSION ET DISCUSSION

### A. Le système GOT, son contrôle génétique et sa diversité

La glutamate oxaloacétate transaminase extraite de feuille de *Panicum maximum* a un déterminisme génétique simple : un gène avec au moins trois allèles codominants. L'enzyme est active sous une forme dimérique et 3 combinaisons des allèles identifiés ont été observées au niveau diploïde. Plusieurs travaux signalent une structure dimérique des isozymes actifs de GoT tant chez des espèces animales (Davidson et al., 1970 ; Chapman et al., 1972 ; Harrison, 1979) que végétales (Mac Donald et Brewbaker, 1972 ; Scandalios et al., 1975 ; Stuber et al., 1979 ; Gottlieb, 1973 ; Hart, 1975 ; Tang et Hart, 1975 ; Hart et al., 1976).

Les études menées sur des systèmes enzymatiques sont facilitées et les informations enrichies par l'observation de diploïdes. La résolution des bandes et l'interprétation des isoenzymes peuvent être faites à partir de l'électrophorèse de pollen haploïde (Weeden, N.F. and Gottlieb, L.D. ; 1979). La diversité enzymatique constatée dans les populations de plantes diploïdes pourraient constituer un outil intéressant dans la compréhension des processus d'évolution des différentes espèces du genre *Panicum*.

Dans les conditions de nos expériences, les effectifs assez faibles des populations diploïdes disponibles, imposent plusieurs hypothèses d'explication des relations observées.

A Bagamoyo les plantes semblent partager le même allèle qui diffère de celui échangé à Korogwé. Ce monomorphisme allélique correspondrait à une simple dérive génétique suivie d'une fixation des différentes formes de l'enzyme ou bien aux différenciations adaptatives modélées par le milieu. Le mécanisme de sélection naturelle donnerait des gradients géographiques pour les allèles avantageux : GoT-1<sup>A1</sup> en plaine et GoT-1<sup>A2</sup> en zones marécageuses.

Le doublement artificiel du nombre de chromosomes de diploïdes n'a pas produit de changements détectables en termes de nombre et d'intensité de bandes des zymogrammes pour le locus révélé de GoT. Pourtant la polyploïdie joue un rôle majeur dans l'évolution des plantes à fleurs. Elle peut affecter la chimie, la physiologie et la morphologie des plantes. L'activité enzymatique accrue est attribuée à la croissance du nombre de molécules actives (Mitra et al., 1971). La duplication de gènes dans les espèces et l'addition de génomes augmentent généralement le nombre des isozymes résultant eux-mêmes de la duplication des loci de gènes structuraux (Gottlieb, 1982).

Le résultat obtenu sur les autotétraploïdes artificiels est similaire à ceux observés par Bhatia et al. (1968) sur le blé pour les systèmes enzymatiques suivants : Estérases (EST), Peroxydases (POX) et Alcool-déshydrogénase (ADH).



En ce qui concerne l'intensité des bandes on ne peut faire des comparaisons entre diploïdes et autotétraploïdes artificiels qu'en utilisant du matériel de même stade de développement pris dans les mêmes conditions d'état sanitaire et pour une même quantité d'extrait. En effet la variation dans l'intensité des bandes des isoenzymes, reflète des changements soit des activités spécifiques, soit de la quantité et qualité de matériel (Shaw, 1970).

Dans les régions de Korogwé et de Bagamoyo, le monomorphisme observé pour un allèle différent (respectivement Got-1 A1 et Got-1 A2) des plantes diploïdes et sexuées n'est plus de règle chez les apomictiques tétraploïdes. Il y a coexistence d'autres formes d'allèles. Toutefois, l'allèle le plus courant reste le même pour les deux niveaux de ploidie.

L'existence de génotypes simplex ou triplex (Got-1 A1A1A1/A2, Got-1 A1A1A1/A3 et Got-1 A1/A2A2A2) ne permet pas de supposer que les apomictiques à 32 chromosomes récoltés dans la nature, sont de véritables autotétraploïdes comme l'a remarqué Combes (1972) en étudiant l'appariement en méiose.

L'observation d'une grande proportion d'individus hétérozygotes soulève des questions :

1°) Comment l'hétérozygotie accroît-elle chez les organismes apomictiques ?

2°) Comment cette hétérozygotie affecte-t-elle l'évolution adaptative d'un lignage apomictique ?

Un tel polymorphisme ne peut s'expliquer autrement que par recombinaisons. L'apomixie est facultative chez *Panicum*. Le taux de sexués est environ 3 % avec 2/3 de tétraploïdes parmi eux (Souciet, 1978). Cette sexualité assez faible n'est sans doute pas suffisante pour expliquer les différentes associations des sous-unités produites par les formes alléliques de Got-1.

La variabilité dans ce complexe serait perpétuée par un contact continu entre les modes de reproduction sexué et apomictique, à travers des cycles diploïde-tétraploïde-dihaploïdes proposés par Savidan et Pernès (1982).

Il est certain que des processus biologiques permettent un flux continu de gènes des formes diploïdes sexuées aux tétraploïdes apomictiques. Harlan (1965), dans un autre groupe agamique, a obtenu des descendants tétraploïdes par fécondation d'oosphères (exceptionnellement non réduites) de parents diploïdes par du pollen diploïde, normalement réduit de tétraploïdes.

Le fonctionnement de gamète femelle non réduit est un phénomène courant, généralement lié à la distance génétique entre les plantes croisées (Harlan et al., 1975).

## B. Le système MDH, son contrôle génétique et sa diversité

Les résultats de l'étude génétique des isoenzymes des malates déshydrogénases de *Panicum* font intervenir au moins 3 gènes :

- un gène Mdh-1 avec au moins 2 allèles. Quand ils sont présents tous les deux, les sous-unités produites par Mdh-1A1 et Mdh-1A2 s'associent pour former des hétérodimères intragènes ;
- un gène Mdh-2, monomorphe, fixé pour l'allèle Mdh-2B. Il y a interaction entre Mdh-1 et Mdh-2. Les hétérodimères intergènes persistent dans les extraits de pollen ;
- un gène Mdh-3 avec 3 allèles codominants Mdh-3 C1-C2-C3. Aucune interaction n'est observée entre Mdh-3 et Mdh-1 ou Mdh-2.

Le système génétique des Mdh anodiques de *Panicum* peut être comparé à celui des Mdh de maïs (Goodman et al., 1980 ; Newton & Schwartz, 1980), de riz (Second, 1982) et de mil (Tostain & Riandey, 1985).

Le contrôle génétique des différents isoenzymes est le même que celui du mil (3 gènes Mdh-1, 2, 3). Comme chez le *Panicum*, les bandes rapides, Mdh-3, sont bien séparées des bandes Mdh-1 et Mdh-2 avec du NAD dans les gels. Il est observé une association des sous-unités Mdh-1 et Mdh-2, indiquant une duplication probable des 2 gènes.

La Mdh anodique de *Panicum* apparaît donc active uniquement sous forme de dimère. Plusieurs types de structure de Mdh ont été rapportés par des auteurs chez les Graminées.

Les isozymes Mdh ont été décrits comme dimères chez le maïs (Yang et Scandalios, 1975 ; Yang et al., 1977), chez le blé (*Triticum aestivum*, L.), le locus Mdh-2 (Benito et Salinas, 1983). Diaz et al., (1986) ont confirmé une structure monomère pour ces molécules chez le blé dur (*Triticum turgidum*) et les blés communs (*Triticum aestivum*). Fernandez et Jouve (1987) ont suggéré une Mdh-1 dimère pour les 2 espèces d'orge : *Hordeum chilense* et *H. tritordeum*, pendant que les isozymes Mdh-2 semblent être monomères. Ces derniers résultats sont en accord avec d'autres espèces *Triticales* (Powling et al., 1981 ; Pérez de la Vega et Allard, 1984 ; Salinas et Benito, 1985).

Dans la cellule, la L-malate déshydrogénase NAD dépendante joue plusieurs fonctions physiologiques importantes. Les isozymes Mdh sont associés à différentes structures cellulaires telles que les mitochondries ou autres organites (Yamazaki et Tobbert, 1969 ; Rocha & Ting, 1970 ; Ting et al., 1975) ou ils sont reconnus comme des molécules du cytosol.

Plusieurs observations tendent à démontrer que les isoenzymes anodiques Mdh-3 sont relatifs à la fraction soluble du cytoplasme (s.Mdh). En effet, ils sont les plus rapides (Mc-Daniel, 1969 ; Yang et Scandalios, 1975), leur activité est inhibée par l'acide ascorbique (Goodman et al., 1980) et à la température de 60°C.

Mdh-2 et Mdh-1 seraient des isoenzymes intimement liés à la membrane de la mitochondrie (m-Mdh). Ces deux gènes ont plusieurs propriétés similaires. Les isozymes Mdh-2 et Mdh-1 sont thermosensibles, ils résistent à l'action de l'acide ascorbique.

Aucune interaction entre mMdh et sMdh n'a pu être observée sur les zymogrammes anodiques. Il est possible que Mdh-1 et Mdh-2 aient des caractéristiques suffisamment éloignées de celles de Mdh-3 pour empêcher toute association fonctionnelle.

L'électrophorèse réalisée sur des mitochondries isolées permettrait de confirmer la localisation subcellulaire des différents isoenzymes de la Mdh anodique étudiée.

Tous les allèles identifiés chez les diploïdes se retrouvent chez les tétraploïdes. Un allèle en plus au locus Mdh-1 est observé dans la population des tétraploïdes permettant de donner de nouvelles associations de sous-unités.

A priori, il n'y a pas de raison de supposer un changement spécifique de l'activité enzymatique avec le niveau de ploïdie. En effet, chez les organismes supérieurs, le contrôle de l'activité enzymatique est complexe, et la régularisation peut s'opérer à plusieurs niveaux (Wyngaarden, 1970). La synthèse et l'inhibition de certaines molécules d'enzyme se font simultanément dans les tissus d'activités métaboliques. Cependant, l'augmentation d'activité mise en évidence au niveau de l'intensité de coloration des bandes peut être attribuée à l'accroissement du nombre de molécules d'enzymes actives.

### **C. La variabilité enzymatique**

Au niveau des diploïdes, les groupes morphologiques sont typés *grosso modo* au point de vue enzymatique. Les représentants de Bagamoyo sont assez homogènes, ils correspondent aux adaptations précises à la survie dans les zones de marais, en revanche, le groupe Korogwé-Vugiri manifeste une diversité plus continue.

La structure tétraploïde apomictique constitue une fixité exceptionnelle avec une variabilité manifeste.

Nos résultats semblent confirmer la nature d'hybride interspécifique des types C constatée par Pernès (1975) après analyses biométriques portant sur des caractères morphologiques. En effet, les types C sont plus proches du taxon *infestum* que ne le sont les types A et B.

La faiblesse de notre échantillonnage est un obstacle pour établir des homologues alléliques entre niveaux di- et tétraploïde. La diversité génétique observée s'explique par l'apport génique des diploïdes sympatriques. Le rôle de la sexualité est lié à celui évolutif des niveaux de ploïdie. Le niveau diploïde présente plus d'efficacité dans le tri des allèles par rapport au tétraploïde qui les accumule.

#### **D. Perspectives**

Les perspectives peuvent être de valoriser l'outil d'analyse génétique que constituent le polymorphisme de 9 systèmes enzymatiques et la connaissance de leur contrôle génétique chez le *Panicum* à la condition de résoudre le problème de la faiblesse des échantillons surtout des plantes diploïdes. Il est alors tout à fait concevable d'établir la carte chromosomique incluant les loci enzymatiques, de l'apoximie et autres caractères intéressants.

D'autres techniques de marquage génétique mises à l'épreuve dans le complexe (polymorphisme des fragments de restriction d'ADN, mitochondrial et chloroplastique) permettraient d'apporter de nouveaux éléments.

Dans l'hypothèse où des groupes de linkage seraient mis en évidence, des possibilités d'approche de la phylogénie des formes diploïde et tétraploïde seraient offertes.

## VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Benito, C. et Salina, J., 1983. The chromosomal location of malate dehydrogenase isozymes in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.).  
Theor. Appl. Genet. 64 : 255-258.
- Bhatia, C.R. ; Mitra, R.K. et Jaganath, D.R., 1968. Polyploidy and isoenzymes.  
Genetics 60, 162 (Abstract).
- Chapman, V.M. et Ruddle, F.H., 1972. Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT)  
Genetics in the Mouse : Polymorphisme of GOT-1.  
Genetics 70 : 299-305.
- Combes, D., 1972. Polymorphisme et mode de reproduction dans la section des *Maximae* du Genre *Panicum* (Graminées) en Afrique.  
Thèse d'Université Paris-Sud.
- Davidson, R.G. ; Cortner, J.A. et Rattazzi, M.C., 1970. Genetic polymorphism of Human mitochondrial glutamic oxaloacetic transaminase.  
Science 169 : 391-392.
- Diaz, F. ; Fernandez, J.A. et Jouve, N., 1986. Structure and chromosomal location of malate dehydrogenase (zone 2) isozymes in common and durum wheats.  
Euphytica 35 : 509-513.
- Fernandez, J.A. et Jouve, N., 1987. Chromosomal location of structure genes controlling isozymes in *Hordeum chilense* -3-Esterases, glutamate oxaloacetate transaminase and phosphoglucose mutase.  
Theor. Appl. Genet., 73 (5), 690-698.
- Goodman, M.M. ; Stuber, C.W. ; Lee, C.N. et Johnson, F.M., 1980. Genetic control of malate dehydrogenase isozymes in maize.  
Genetics 94 : 153-168.
- Gottlieb, L.D., 1973. Genetic control of glutamate oxaloacetate transaminase isoenzyme in the diploid plant *Stephanomeria exigua* and its allotetraploid derivative.  
Biochem. Genet. 9 : 97-107.
- Gottlieb, L.D., 1982. Conservation and duplication of isozymes in plants.  
Sciences, 216 : 373-380.
- Harlan, J.R., 1965. The use of apomixis in the improvement of tropical and subtropical grasses.  
Proc. IX<sup>th</sup>. Int. Grass. 1. Congr. pp. 191-193.

- Harlan, J.R. et De Wet, J.M.J., 1975. On öwinge and a prayer : the origins of polyploidy.  
Bot. Rev., Vol. 41, n° 4, pp. 361-390.
- Harrison, R.G., 1979. Speciation in North American field crickets : evidence from electrophoretic comparisons.  
Evolution, 33 (4), pp. 1009-1023.
- Hart, G.E., 1975. Got isozymes of *Triticum* : Evidence for multiple systems of triplicate structural genes in hexaploid wheat. In Isozymes : III. Developmental Biology (ed. Market, C.), 637-657, N.Y. Academic Press.
- Hart, G.E. ; McMillin, D.E. et Sears, E.R., 1976. Determination of chromosomal location of a got structural gene using *Triticum* . Agropyron translocations.  
Genetics 83, 49-61.
- McDonald, T. et Brewbaker, J.L., 1972. Isoenzyme polymorphism in flowering plants. VIII. Genetic control and dimeric nature of transaminase hybrid maize isoenzymes.  
J. Hered. 63 : 11-14.
- Mc Daniel, 1969. Mitochondrial heterosis in barley. *In* : Nilan R.A. (ed.) Barley genetics II.  
Washington State University Press, Pullman Wash, pp. 323-339.
- Mitra, R. et Bathia, C.R., 1971. Isoenzymes and polyploidy. I. Qualitative and quantitative isoenzymes studies in Triticinae.  
Genet. Res., Camb., 18, pp. 57-69.
- Newton, K.J. et Schwartz, D., 1980. Genetics basis of the major malate dehydrogenase isozymes in maize.  
Genetics, 95, 425-442.
- Noirot, M., 1978. Inventaire du matériel végétal *Panicum maximum* prospecté et introduit sur la Station ORSTOM d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire), non publié.
- Pérez de la Véga, M. et Allard, R.W., 1984. Mating system and genetic polymorphism in populations of *Secale cereale* and *S. vovilovii* .  
Can. J. Genet. Cytol., 26 : 308-317.
- Pernès, J., 1975. Organisation évolutive d'un groupe agamique : La section des *Maximae* du genre *Panicum* (graminées).  
Mémoires ORSTOM, Paris, n° 75, 108 p.
- Powling, A. ; Islam, A.K.M.R. et Shepherd, K.W., 1981. Isozymes in wheat-barley hybrid derivative lines.  
Biochem. Genet. 19 : 237-253.

- Rocho, V. et Ting, I.P., 1970. Tissue distribution of microbody mitochondrial and soluble malate dehydrogenase isoenzymes. *Plant Physiol* 46 : 754-756.
- Ryan, E., Bodley, F. et Fottrell, P.F., 1978. Purification and characterization of aspartate aminotransferases from soybean root nodules and *rhizobium*. *Phytochemistry*, 11 : 957-960.
- Ryan, E. et Fottrell, P.F., 1974. Subcellular localization of enzymes involved in the assimilation of ammonia by soybean root nodules. *Phytochemistry*, 13 : 2647-2652.
- Salinas, J. et Benito, C., 1985. Chromosome location of malate dehydrogenase structure genes in rye (*Secale cereale* L.). *Z. Pflanzenzüchtg* 94 : 208-217.
- Savidan, Y. et Pernès, J., 1982. Diploïd-tetraploïd cycles and the evolution of *Panicum maximum* Jacq. *Evolution*, 36 : 596-600.
- Scandalios, J.G., Sorenson, J.C. et Ott., L.A., 1975. Genetic control and intracellular localization of glutamate oxaloacetic transaminase in maize. *Biochem. Genet.*, 13 : 759-769.
- Second, G., 1982. Origin of the genic diversity of cultivated rice (*Oryza* spp. ) : study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. *Jpn. J. Genet.*, 57, 25-57.
- Second, G. et Trouslot, P., 1980. Electrophorèse d'enzymes de riz (*Oryza* sp. ) *Travaux et Documents de l'ORSTOM*, n°120.
- Shaw, C.R., 1969. Isozymes : classification, frequency and significance. *Int. Res. Cytol.*, 25, 297-332.
- Shaw, C.R., 1970. How many genes evolve ? *Biochemical Genetics*, 4 : 275-283.
- Souciet, J.L., 1978. Contrôle de l'inhibition de la germination chez une espèce apomictique le *Panicum maximum* : étude plus particulière de l'influence du gamète mâle sur la constitution génotypique de l'albumen. *Thèse de doctorat 3ème cycle, Paris-Sud*.
- Stuber, C.W. et Goodman, N.M., Genetics and linkage of Got. *Maize Genet. Cooperation Newsletter*, 53 : 75-76.
- Tang, K.S. et Hort, G.E., 1975. Use of isozymes as chromosome markers in wheat-rye addition lines and in triticales. *Genet. Res.* 26 : 187-201.

- Ting, I.P. ; Fuhr, I. ; Curry, R. ; Zchoche, W.C., 1975. Malate dehydrogenase isoenzymes in plants : preparation, properties and biological significance. *In* : Market C.L. (ed.) Isozymes vol. II. Academic Press. New York, pp. 369-389.
- Tostain, S. et Riandey, M.F., 1985. Polymorphisme et déterminisme génétique des enzymes du mil pénicillaire (*Pennisetum glaucum* ). Etude des malates déshydrogénases. *Agronomie*, 5 (3) : 227-238.
- Weeden, N.F. et Gottlieb, L.D., 1979. Distinguishing Allozymes and Isozymes of Phosphoglucosomerase by electrophoretic comparisons of pollen and somatic tissues. *Biochemical Genetics*, vol. 17, N°s 3/4 : 287-296.
- Wyngaarden, J.B., 1970. Genetic control of enzyme activity in higher organisms. *Biochemical Genetics*, 4, 105-125.
- Yamazaki, R.K. et Tolbert, N.E., 1969. Malate dehydrogenase in leaf peroxisomes. *Biochem. Biophys. Acta*, 178 : 1-20.
- Yang, N.S. et Scandalios, J.G., 1975. De novo synthesis and developmental control of multiple gene-controlled malate dehydrogenase isozymes in maize, scutella. *Biochim-Biophys Acta*, 384 : 293-306.
- Yang, N.S. ; Sorenson, J.C. et Scandalios, J.G., 1977. Genetic control of mitochondrial malate dehydrogenases : Evidence for duplicated chromosome segments. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, Vol. 74, n° 1, pp. 310-314.



## ANNEXES

# ANNEXE A

## ANALYSE FACTORIELLE DES CORRESPONDANCES AVEC 21 INDIVIDUS ACTIFS ET 43 VARIABLES .

Tableau A<sub>1</sub> : Valeurs propres

Facteur	Lamda	Inertie	Inertie cumulée	Histogramme des valeurs propres
1	0.23452	0.2332864	0.23329	*****
2	0.15080	0.1500070	0.38329	*****
3	0.13528	0.1345710	0.51786	*****
4	0.08538	0.0849332	0.60280	*****

### Tableau A<sub>2</sub>

EDITION DES COORDONNEES ET DES CONTRIBUTIONS (C.A.=CONTRIBUTIONS ABSOLUES / C.R.=CONTRIBUTIONS RELATIVES)

Non	à Masses u	à Axe 1 u	à C.A.	à C.R.	à Axe 2 u	à C.A.	à C.R.	à Axe 3 u	à C.A.	à C.R.	à Axe 4 u	à C.A.	à C.R.	à
VARIABLES ACTIVES														
BD1	à 0.057	à 0.336	à 2.731	à60.024	à-0.192	à 1.392	à19.668	à-0.097	à 0.394	à 4.998	à-0.031	à 0.062	à 0.500	à
BD2	à 0.011	à-1.323	à 8.481	à39.385	à 0.737	à 4.091	à12.217	à 0.566	à 2.686	à 7.201	à 0.250	à 0.830	à 1.400	à
PM2	à 0.019	à 0.465	à 1.793	à27.521	à 0.136	à 0.238	à 2.352	à 0.113	à 0.185	à 1.640	à-0.075	à 0.129	à 0.723	à
PM3	à 0.049	à-0.103	à 0.219	à 9.841	à-0.107	à 0.367	à10.583	à-0.026	à 0.025	à 0.649	à 0.053	à 0.158	à 2.581	à
EP1	à 0.026	à 0.525	à 3.057	à64.353	à-0.425	à 3.115	à55.275	à 0.017	à 0.006	à 0.088	à 0.177	à 0.950	à 9.540	à
EP2	à 0.024	à 0.351	à 1.518	à35.183	à-0.107	à 0.186	à 2.765	à-0.246	à 1.089	à14.544	à 0.193	à 1.060	à 8.778	à
EP3	à 0.008	à-0.977	à 3.304	à15.845	à 1.068	à 6.143	à23.730	à-0.201	à 0.243	à 0.843	à-1.553	à22.920	à50.128	à
EP4	à 0.008	à-1.450	à 7.275	à32.984	à 0.469	à 1.182	à 3.445	à 0.809	à 3.925	à10.277	à 0.226	à 0.484	à 0.799	à
IC1	à 0.036	à-0.100	à 0.154	à 1.139	à-0.086	à 0.177	à 0.843	à-0.536	à 7.573	à32.357	à-0.165	à 1.133	à 3.054	à
IC2	à 0.032	à 0.235	à 0.765	à 4.864	à 0.017	à 0.006	à 0.024	à 0.618	à 9.154	à33.582	à 0.215	à 1.754	à 4.062	à
IC3	à 0.024	à-0.659	à 4.511	à33.257	à-0.101	à 0.163	à 0.774	à-0.340	à 2.080	à 8.844	à-0.243	à 1.680	à 4.509	à
IC4	à 0.003	à 3.045	à12.833	à44.139	à 2.477	à13.212	à29.221	à-0.676	à 1.096	à 2.175	à-0.067	à 0.017	à 0.022	à
IC6	à 0.041	à 0.252	à 1.095	à11.933	à-0.201	à 1.083	à 7.589	à 0.281	à 2.365	à14.869	à 0.178	à 1.507	à 5.980	à
ES1	à 0.002	à 0.705	à 0.344	à 2.544	à-1.329	à 1.902	à 9.046	à 2.262	à 6.142	à26.205	à-2.500	à11.881	à31.992	à
ES2	à 0.011	à-0.094	à 0.043	à 0.195	à-0.588	à 2.605	à 7.674	à 1.282	à13.810	à36.492	à 0.624	à 5.179	à 8.637	à
ES3	à 0.013	à 0.159	à 0.140	à 0.609	à-1.308	à14.734	à11.364	à-1.317	à16.663	à11.964	à 0.042	à 0.026	à 0.042	à
ES4	à 0.028	à 0.009	à 0.001	à 0.040	à-0.271	à 1.343	à32.342	à 0.076	à 0.116	à 2.515	à-0.086	à 0.241	à 3.287	à
ES5	à 0.029	à 0.022	à 0.006	à 0.311	à-0.323	à 2.020	à65.212	à-0.001	à 0.000	à 0.001	à-0.078	à 0.210	à 3.837	à
ES6	à 0.005	à-1.432	à 4.261	à35.523	à 0.499	à 0.805	à 4.317	à 0.717	à 1.850	à 8.898	à 0.100	à 0.057	à 0.173	à
ES7	à 0.011	à 0.528	à 1.351	à 7.615	à 0.889	à 5.953	à21.568	à 0.096	à 0.078	à 0.253	à 0.020	à 0.006	à 0.011	à
ES8	à 0.008	à 1.414	à 6.917	à42.249	à 0.064	à 0.022	à 0.085	à 0.518	à 1.612	à 5.681	à-0.798	à 6.057	à13.469	à
ES9	à 0.057	à-0.043	à 0.045	à 1.220	à-0.076	à 0.218	à 3.804	à-0.133	à 0.745	à11.638	à 0.095	à 0.604	à 5.955	à
P11	à 0.011	à 1.198	à 6.954	à48.073	à 0.659	à 3.274	à14.552	à 0.096	à 0.077	à 0.306	à 0.679	à 6.145	à15.466	à
P12	à 0.013	à 0.919	à 4.680	à36.356	à 0.430	à 1.591	à 7.950	à-0.245	à 0.574	à 2.574	à-0.051	à 0.040	à 0.112	à
P13	à 0.006	à 0.741	à 1.519	à12.822	à-0.626	à 1.685	à 9.146	à 0.591	à 1.674	à 8.150	à 0.936	à 6.658	à20.459	à
P14	à 0.057	à-0.168	à 0.687	à26.209	à-0.177	à 1.176	à28.827	à-0.003	à 0.000	à 0.007	à-0.117	à 0.905	à12.557	à
P15	à 0.047	à-0.247	à 1.224	à36.021	à-0.161	à 0.809	à15.304	à 0.017	à 0.011	à 0.180	à-0.131	à 0.950	à10.180	à
P16	à 0.002	à-0.666	à 0.307	à 2.035	à 2.162	à 5.030	à21.418	à-0.342	à 0.140	à 0.535	à 1.149	à 2.509	à 6.050	à
PD1	à 0.063	à-0.011	à 0.003	à 0.339	à 0.029	à 0.036	à 2.274	à-0.089	à 0.375	à21.224	à 0.099	à 0.734	à26.223	à
PD2	à 0.005	à 0.977	à 1.983	à15.908	à-0.904	à 2.638	à13.609	à 1.353	à 6.589	à30.497	à-1.068	à 6.503	à18.996	à
PD7	à 0.002	à-0.058	à 0.002	à 0.016	à-1.074	à 1.242	à 5.495	à-0.648	à 0.504	à 2.000	à-0.251	à 0.120	à 0.300	à
PD4	à 0.067	à 0.062	à 0.110	à31.793	à-0.012	à 0.006	à 1.198	à 0.030	à 0.043	à 7.248	à 0.023	à 0.040	à 4.206	à
PD5	à 0.003	à 1.059	à 1.554	à11.887	à-0.964	à 2.002	à 9.845	à 1.697	à 6.908	à30.481	à-1.951	à14.473	à40.302	à
PD6	à 0.063	à 0.026	à 0.019	à 1.915	à 0.047	à 0.092	à 6.060	à-0.032	à 0.047	à 2.772	à 0.044	à 0.142	à 5.306	à
SK1	à 0.006	à-1.445	à 5.779	à51.493	à 1.131	à 5.509	à31.561	à 0.349	à 0.586	à 3.013	à-0.136	à 0.140	à 0.453	à
SK2	à 0.023	à-0.165	à 0.264	à 2.306	à-0.238	à 0.855	à 4.807	à 0.452	à 3.426	à17.279	à 0.252	à 1.685	à 5.363	à
SK3	à 0.019	à-0.134	à 0.150	à 2.423	à-0.272	à 0.957	à 9.968	à-0.046	à 0.030	à 0.281	à-0.027	à 0.016	à 0.095	à
SK4	à 0.021	à-0.084	à 0.064	à 1.172	à 0.052	à 0.038	à 0.449	à-0.383	à 2.293	à24.389	à-0.076	à 0.144	à 0.964	à
SK5	à 0.005	à 2.501	à12.990	à56.161	à 1.452	à 6.806	à18.922	à-0.074	à 0.020	à 0.049	à-0.512	à 1.497	à 2.356	à
MD1	à 0.013	à-0.128	à 0.091	à 1.034	à 0.316	à 0.859	à 6.261	à-0.439	à 1.848	à12.080	à 0.088	à 0.118	à 0.486	à
MD2	à 0.060	à 0.173	à 0.765	à51.728	à-0.204	à 1.661	à72.202	à 0.125	à 0.689	à26.869	à 0.058	à 0.235	à 5.783	à
MD3	à 0.002	à 0.140	à 0.013	à 0.100	à-1.607	à 2.778	à13.213	à-1.391	à 2.321	à 9.902	à 0.045	à 0.004	à 0.010	à
MD4	à 0.008	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à 0.000	à

## ANNEXE B

### ANALYSE FACTORIELLE DES CORRESPONDANCES AVEC 57 INDIVIDUS ACTIFS ET 36 VARIABLES .

Tableau B<sub>1</sub> : Valeurs propres

Facteur	Lamda	Inertie	Inertie cumulée	Histogramme des valeurs propres
1	0.18525	0.1731250	0.17312	*****
2	0.14134	0.1320877	0.30521	*****
3	0.12486	0.1166894	0.42190	*****
4	0.08834	0.0825603	0.50446	*****
5	0.08225	0.0768692	0.58133	*****

Tableau B2

EDITION DES COORDONNEES ET DES CONTRIBUTIONS (C.A.=CONTRIBUTIONS ABSOLUES / C.R.=CONTRIBUTIONS RELATIVES)

Non	à	Masses	à	Axe 1	à	C.A.	à	C.R.	à	Axe 2	à	C.A.	à	C.R.	à	Axe 3	à	C.A.	à	C.R.	à	Axe 4	à	C.A.	à	C.R.	à
VARIABLES ACTIVES																											
GC1	à	0.125	à	0.167	à	1.872	à	637.395	à	-0.073	à	0.465	à	7.171	à	0.014	à	0.012	à	0.250	à	-0.056	à	0.452	à	4.348	à
GC2	à	0.033	à	-0.516	à	5.002	à	627.068	à	0.300	à	2.219	à	9.164	à	-0.001	à	0.000	à	0.000	à	0.329	à	4.266	à	11.810	à
GC3	à	0.004	à	0.075	à	0.011	à	0.055	à	0.332	à	0.278	à	1.090	à	0.212	à	0.125	à	0.444	à	-1.525	à	9.357	à	622.975	à
MD1	à	0.006	à	-0.092	à	0.026	à	0.133	à	-0.384	à	0.592	à	2.326	à	0.511	à	1.189	à	4.124	à	-1.490	à	14.298	à	635.097	à
MD2	à	0.014	à	-0.321	à	0.792	à	5.935	à	-0.184	à	0.342	à	1.952	à	-0.149	à	0.251	à	1.268	à	-0.295	à	1.403	à	5.010	à
MD3	à	0.127	à	0.116	à	0.919	à	612.520	à	-0.059	à	0.310	à	3.219	à	0.086	à	0.753	à	6.917	à	-0.184	à	4.839	à	631.431	à
MD4	à	0.031	à	-0.590	à	5.873	à	621.868	à	0.273	à	1.652	à	4.693	à	0.176	à	0.777	à	1.950	à	0.614	à	13.362	à	623.728	à
MD5	à	0.004	à	2.178	à	10.923	à	624.469	à	0.340	à	0.348	à	0.595	à	-3.011	à	630.963	à	646.752	à	0.489	à	1.157	à	1.236	à
EP1	à	0.004	à	0.384	à	0.340	à	1.639	à	-1.109	à	3.710	à	613.661	à	1.125	à	4.321	à	614.055	à	-0.495	à	1.183	à	2.723	à
EP2	à	0.026	à	0.457	à	2.966	à	612.556	à	-0.584	à	6.338	à	620.469	à	0.719	à	610.899	à	631.094	à	0.396	à	4.657	à	9.401	à
EP3	à	0.040	à	0.040	à	0.035	à	0.190	à	0.640	à	611.518	à	648.065	à	-0.421	à	5.646	à	620.815	à	-0.301	à	4.086	à	610.658	à
EP4	à	0.011	à	-1.172	à	7.911	à	627.953	à	-0.385	à	1.116	à	3.009	à	-0.485	à	2.012	à	4.791	à	0.255	à	0.785	à	1.322	à
PM1	à	0.002	à	1.136	à	1.486	à	7.815	à	-1.084	à	1.773	à	7.115	à	-0.387	à	0.256	à	0.908	à	0.631	à	0.962	à	2.414	à
PM2	à	0.020	à	-0.168	à	0.303	à	2.786	à	-0.440	à	2.727	à	619.150	à	0.399	à	2.538	à	615.745	à	0.393	à	3.476	à	615.255	à
PM3	à	0.060	à	0.045	à	0.065	à	1.475	à	0.210	à	1.854	à	631.916	à	-0.098	à	0.461	à	7.009	à	-0.164	à	1.820	à	619.584	à
SK1	à	0.006	à	-1.329	à	7.453	à	647.642	à	-0.278	à	0.427	à	2.082	à	-0.573	à	2.053	à	8.846	à	0.349	à	1.079	à	3.288	à
SK2	à	0.018	à	-0.671	à	4.488	à	628.308	à	-0.430	à	2.416	à	611.626	à	-0.142	à	0.297	à	1.262	à	-0.185	à	0.714	à	2.148	à
SK3	à	0.043	à	0.049	à	0.056	à	0.998	à	0.078	à	0.182	à	2.476	à	-0.063	à	0.137	à	1.656	à	0.048	à	0.113	à	0.966	à
SK4	à	0.023	à	0.555	à	3.776	à	636.756	à	0.205	à	0.676	à	5.020	à	0.198	à	0.714	à	4.682	à	-0.011	à	0.003	à	0.014	à
IC2	à	0.016	à	1.401	à	616.568	à	647.133	à	-0.636	à	4.476	à	9.716	à	-0.921	à	610.613	à	620.351	à	0.550	à	5.355	à	7.265	à
IC3	à	0.041	à	-0.622	à	8.614	à	639.900	à	-0.368	à	3.956	à	613.981	à	-0.070	à	0.162	à	0.505	à	-0.374	à	6.541	à	614.449	à
IC4	à	0.024	à	0.269	à	0.944	à	2.966	à	1.093	à	620.412	à	649.258	à	0.789	à	612.050	à	625.690	à	0.242	à	1.606	à	2.423	à
P12	à	0.016	à	0.312	à	0.821	à	5.792	à	-0.034	à	0.013	à	0.067	à	0.635	à	5.052	à	624.011	à	0.485	à	4.162	à	613.995	à
P13	à	0.065	à	-0.032	à	0.037	à	1.217	à	0.028	à	0.035	à	0.881	à	-0.125	à	0.812	à	617.993	à	-0.131	à	1.268	à	619.881	à
PD1	à	0.070	à	-0.046	à	0.081	à	3.326	à	0.096	à	0.460	à	614.448	à	-0.022	à	0.028	à	0.764	à	-0.073	à	0.423	à	618.304	à
PD2	à	0.011	à	0.563	à	1.827	à	610.810	à	-0.515	à	2.000	à	9.029	à	0.314	à	0.840	à	3.351	à	0.389	à	1.830	à	5.165	à
E1	à	0.011	à	0.540	à	1.789	à	611.892	à	-0.396	à	1.261	à	616.392	à	0.079	à	0.056	à	0.253	à	-0.472	à	2.873	à	9.106	à
E2	à	0.033	à	0.069	à	0.086	à	2.285	à	-0.206	à	1.005	à	620.455	à	-0.004	à	0.001	à	0.010	à	0.076	à	0.217	à	2.765	à
E3	à	0.031	à	0.181	à	0.556	à	611.433	à	0.218	à	1.051	à	616.507	à	-0.041	à	0.041	à	0.572	à	0.166	à	0.971	à	9.527	à
E4	à	0.033	à	0.178	à	0.558	à	613.518	à	0.148	à	0.507	à	9.379	à	0.013	à	0.004	à	0.070	à	0.132	à	0.641	à	7.402	à
E5	à	0.006	à	0.297	à	0.271	à	1.460	à	-1.304	à	616.636	à	628.093	à	0.592	à	1.594	à	5.785	à	-0.052	à	0.017	à	0.044	à
E6	à	0.012	à	-0.681	à	3.027	à	622.306	à	-0.601	à	3.086	à	617.351	à	-0.377	à	1.376	à	618.831	à	0.278	à	1.059	à	3.721	à
E7	à	0.009	à	-0.802	à	3.208	à	621.844	à	-0.563	à	2.075	à	610.780	à	-0.427	à	1.351	à	616.198	à	0.299	à	0.934	à	3.034	à
E8	à	0.006	à	-1.206	à	4.466	à	626.972	à	-0.034	à	0.005	à	0.021	à	-0.626	à	1.785	à	7.264	à	0.744	à	3.565	à	610.267	à
E9	à	0.011	à	-0.704	à	2.850	à	618.843	à	0.577	à	2.513	à	612.674	à	-0.237	à	0.481	à	2.142	à	0.207	à	0.519	à	1.637	à
E11	à	0.005	à	0.017	à	0.001	à	0.004	à	1.797	à	611.365	à	644.818	à	0.293	à	0.342	à	1.192	à	0.031	à	0.005	à	0.013	à

# PLANCHE A

## Zymogrammes de malate déshydrogénase (MDH)

Les plaques d'amidon sont photographiées après la révélation des zymogrammes. Le sens de migration est de bas en haut.

Les plaques portent les mêmes extraits de feuilles.

Fig. 10 : Différents zymogrammes de MDH observés avec des plantes diploïdes.

Fig. 11 : Zymogrammes de MDH obtenus avec du NAD dans les gels d'amidon.

Fig. 12 : Zymogrammes de MHD obtenus après un traitement thermique de 20 minutes à 60°C.

# P L A N C H E A

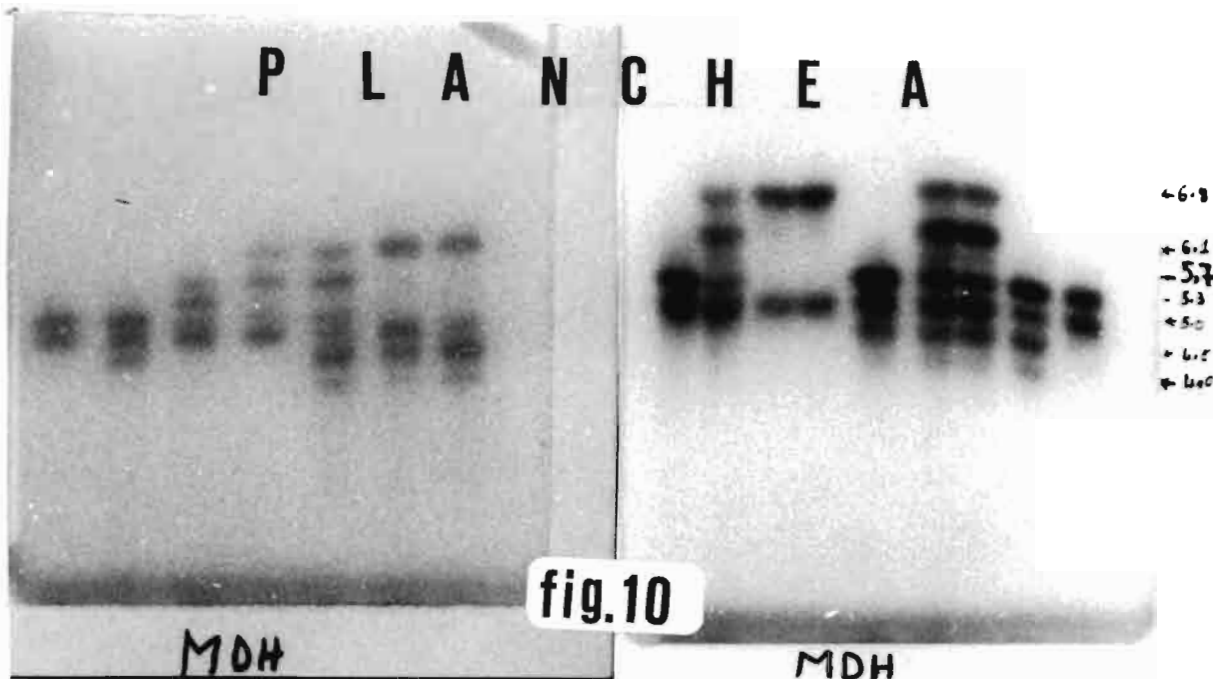


fig.10

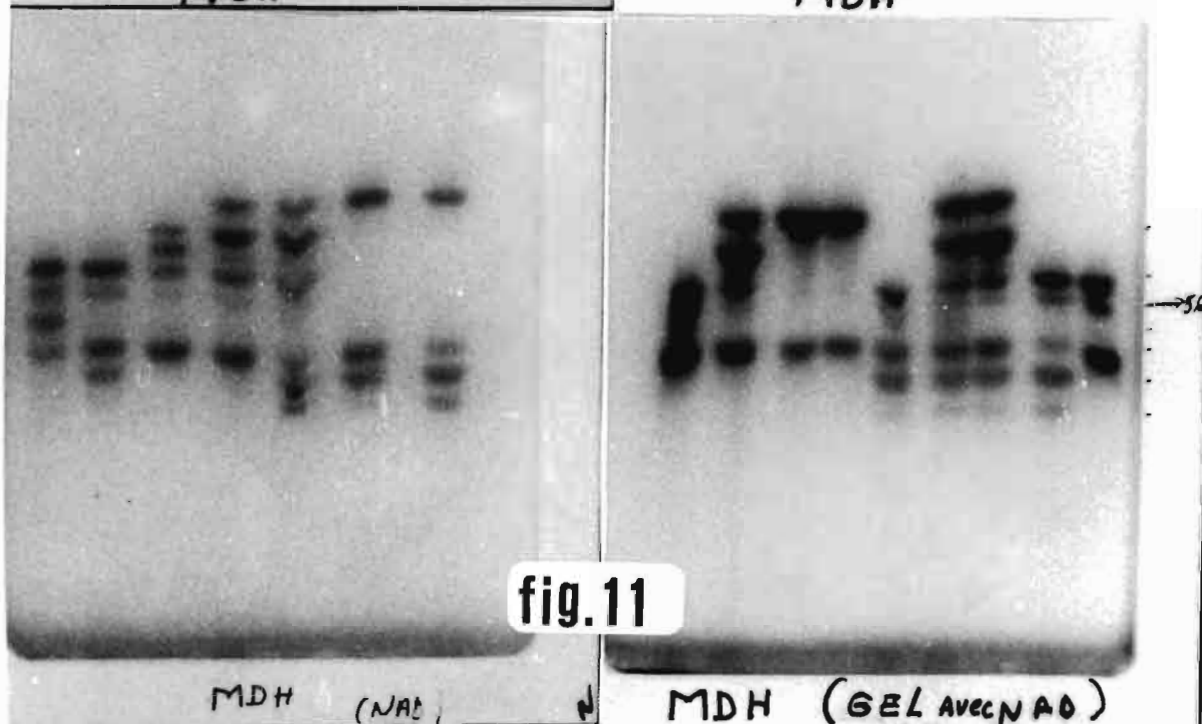


fig.11

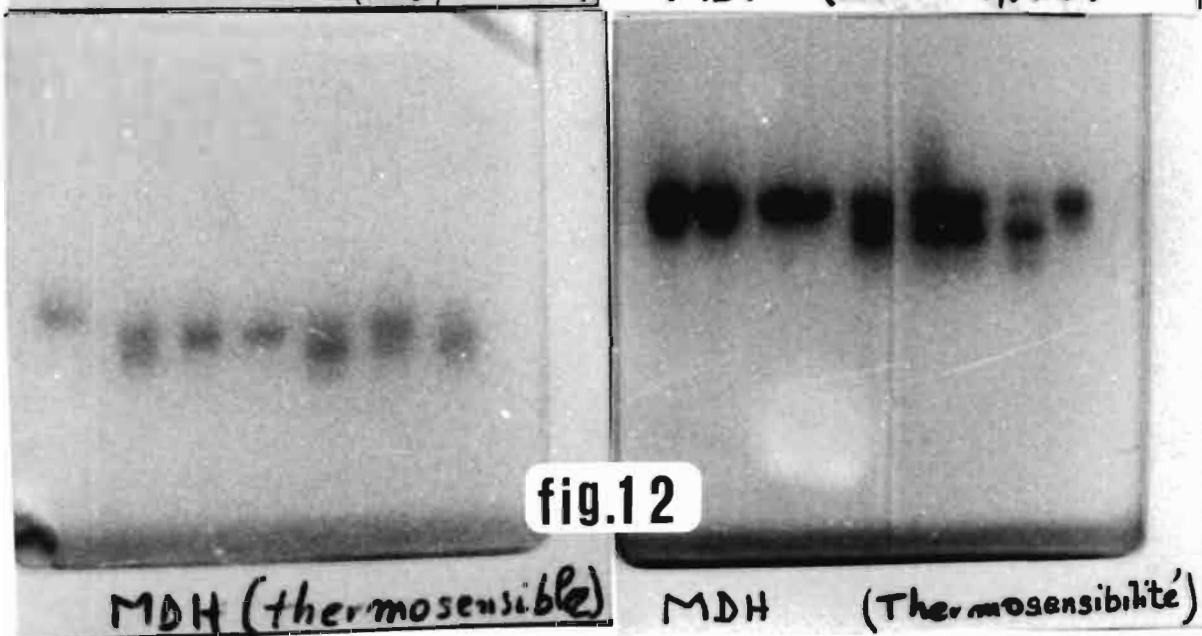


fig.12

## PLANCHE B

Modèles électrophorétiques des systèmes enzymatiques :

PGD : Phosphogluconate déshydrogénase

PGM : Phosphoglucomatase

GoT : Glutamate oxaloacétate transaminase

MDH : Malate déshydrogénase

Pgi : Phosphoglucose isomérase

SKDH : Shikimique déshydrogénase

ICD : Isocitrate déshydrogénase

EP : Endopeptidase.



